



# Dynamique de l'excitabilité neuronale: approches théorique et numérique

Jonathan Platkiewicz

## ► To cite this version:

Jonathan Platkiewicz. Dynamique de l'excitabilité neuronale: approches théorique et numérique. Neurosciences [q-bio.NC]. Université René Descartes - Paris V, 2010. Français. NNT : 2010PA05T0 . tel-00612602

**HAL Id: tel-00612602**

**<https://theses.hal.science/tel-00612602>**

Submitted on 26 Nov 2011

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

---

## THÈSE

pour obtenir le grade de

## DOCTEUR

Sciences de la Vie et de la Santé

Ecole Doctorale : n°474 Interdisciplinaire Européenne  
Frontières du Vivant

Discipline : NEUROSCIENCES

présentée et soutenue publiquement par Jonathan PLATKIEWICZ  
le 9 Juillet 2010

## Sujet :

**Dynamique de l'excitabilité neuronale :  
approches théorique et numérique**

Thèse dirigée par Romain BRETTE et Nicolas BRUNEL  
dans l'Equipe Audition du Département d'Etudes Cognitives  
de l'Ecole Normale Supérieure

## Jury :

Pr	Jean-François JOANNY	Président
Dr	Romain BRETTE	Directeur
Dr	Nicolas BRUNEL	Directeur
Dr	Alain DESTEXHE	Rapporteur
Dr	Vincent HAKIM	Rapporteur
Dr	Dominique DEBANNE	Examineur
Dr	Alex REYES	Examineur





## Remerciements

Hier, je suis allé à la soutenance de thèse d'un ami et c'était émouvant. C'est étonnant de voir se dérouler en quelques petites heures, le travail, l'atmosphère, les relations de quatre années intenses. En assistant à cette soutenance, cela m'a rappelé la mienne. Dans la foulée de l'émotion de la veille, je me précipite alors pour écrire ces remerciements. Romain, mon directeur de thèse, a été mon épaule, ma béquille pendant ces quatre années. Il a su raffermir mon esprit scientifique et m'apprendre les ficelles du métier. Certes, il y a eu ces moments difficiles où les regards en disaient plus que les paroles, où des notes de bas de page ont amené à réécrire entièrement un manuscrit. Mais au final, cela fait chaud au coeur lorsque vous réalisez que tout cela n'est qu'affection et sincérité n'osant à peine se dévoiler. Nicolas, mon autre directeur de thèse, m'a été très précieux par ses commentaires avisés et ses conseils toujours pertinents. J'ai beaucoup apprécié sa gentillesse et sa disponibilité. J'aimerais aussi chaleureusement remercier tous les membres du jury et en particulier les rapporteurs. Leur travail de révision m'a beaucoup aidé pour préparer la soutenance et a été très bénéfique pour prendre du recul par rapport à mon sujet. J'ai aussi beaucoup apprécié l'échange que nous avons eu lors de la séance des questions. Je dois dire que j'y ai même pris plaisir et la salle aussi apparemment. Je souhaite enfin remercier Michael Brenner. Notre rencontre fortuite s'est révélée pleine d'aventures et de surprises. Je tiens à le remercier sincèrement pour l'hospitalité et la gentillesse qu'il a su me témoigner durant mon séjour à Boston. Et j'avoue avoir eu un grand plaisir à travailler à ses côtés et à discuter de modèles de potentiels d'action, même un 25 décembre alors que des tempêtes de neige s'abattaient sur la ville.

Ceci étant, ma vie de thésard à Paris n'a pas été dénuée de charme. Je le dois surtout à toute l'équipe Audition. La joie de vivre, l'émulation intellectuelle et le sérieux scientifique et philosophique qui y règne m'ont offert un environnement idéal pour mener jusqu'au bout ma thèse. Les pièces avaient beau être exigües, les places de bureaux chères, les néons en état discutable, je m'y suis senti comme à la maison, d'ailleurs parfois trop au goût de Christian. Je tiens à remercier tous les membres de cette équipe pour m'avoir accueilli en leur sein avec chaleur et bienveillance : Agnès, Alain, Bertrand, Boris, Christian, Claire, Clara, Cyrille, Dan Gnansia, Daniel, Denis, Issam, Marion, Marine, Tim, Trevor, Vanessa, Victor. Merci en particulier à Trevor pour son aide précieuse et amicale, à Cyrille pour la relecture du manuscrit et à tous les autres pour leurs commentaires durant les préparations à la soutenance. J'ai bien vu qu'à plusieurs reprises ils m'ont cru définitivement perdu alors que je luttais jusqu'au bout de la nuit avec des simulations numériques de dynamique de potentiels d'action. Mais au final, grâce à la générosité et à l'humour de Daniel, Clara et les autres, ils ont su me rattraper à temps avant que je sombre définitivement dans les arcanes de l'excitabilité. J'aimerais enfin remercier tout particulièrement Dan Goodman. Il a été un vrai compagnon de route durant toute cette thèse. Il ne comprend pas bien encore le français après trois ans dans ce beau pays, mais je sais qu'il saura lire entre les lignes. Je lui dois une fière chandelle pour les simulations avec Brian (le meilleur logiciel de simulation de réseaux de neurones), auxquelles il

m'a apporté une aide inestimable à toute heure de la journée ou de la nuit.

Il me faut maintenant remercier les amis et la famille proches. J'aimerais vraiment les remercier pour le soutien qu'ils m'ont apporté tout au long de la thèse et pour être venu m'encourager le jour de la soutenance. Je commencerai par Jonathan et Thierry qui m'ont apporté une aide incroyable dans la relecture du manuscrit. Nos discussions nocturnes jusqu'au petit matin ont été ma principale source d'inspiration. Je voudrais remercier aussi Adrien, Antonio, Carla, Ed, Louise, Manu, Naïma, Vassili et Virginie qui sont venus le 9 juillet et tous les autres aussi qui étaient en vacances aux Baléares ou en conférence à Hawaï. Un merci particulier à Carla pour s'être déplacée de Grenoble en béquilles et pour ses délicieux "empanadas", à Ed pour être venu depuis Oxford et pour avoir divertifié l'assemblée et à Manu pour nous avoir aidé à l'organisation du pot. Enfin, et c'est presque fini, j'aimerais remercier du fond du coeur ma famille. Ils m'ont plus que soutenu durant toute la thèse et la difficile période de rédaction. Merci pour la préparation du pot fait maison, c'était délicieux. Merci mamie pour avoir essayé de négocier avec mon jury. Merci papi pour ton soutien téléphonique. Merci Johanna pour la petite vidéo. Merci Ilana pour ton humour corrosif qui m'a bien remonté le moral pendant la rédaction. Et merci mes parents parce que c'est vous. Le dernier mot va bien entendu aux femmes de ma vie, si cette dernière ligne est lue, je suis foutu.

« My brain ? That's my second favorite organ. »  
Woody Allen, *Sleeper* (1973).



---

## Résumé

Les neurones émettent des impulsions électriques suivant une loi dite “tout-ou-rien” : un potentiel d’action stéréotypé est généré et propagé pour des amplitudes suffisamment grandes du stimulus, autrement aucune décharge n’a lieu. L’amplitude minimale au-delà de laquelle une impulsion est générée est appelée seuil d’excitabilité. Des expériences *in vivo* récentes, dans lesquelles l’activité membranaire des neurones du système nerveux central a été enregistrée, ont mis en évidence une variabilité significative de ce seuil. De plus, il a été observé une adaptation du seuil à la dynamique de l’activité membranaire précédant l’initiation des impulsions. Ces observations nous ont intéressées car elles concernaient à la fois les hypothèses fondamentales de la biophysique de l’excitabilité et les conceptions classiques de l’intégration synaptique.

Nous nous sommes alors demandé dans quelle mesure et comment les différents mécanismes biophysiques impliqués dans l’excitabilité contribuent à la variabilité du seuil. Nous nous sommes aussi demandé quelle est l’influence spécifique sur la dynamique du seuil d’un mécanisme classique de régulation de la décharge, l’inactivation du canal sodium. Nous avons abordé ces questions à partir d’analyses mathématiques et de simulations numériques de modèles d’excitabilité. Nous avons montré qu’il est possible d’obtenir un seuil variable dans le cadre des hypothèses classiques et de le prédire quantitativement à partir des variables biophysiques de l’excitabilité. Nous avons aussi confirmé que l’inactivation du canal sodium permet de rendre compte des différentes caractéristiques du seuil. Ainsi, notre travail confirme la pertinence des modèles à seuil pour décrire la dynamique de l’excitabilité neuronale.

**Mots clés :** neurone, seuil de potentiel d’action, canaux sodiums, intégration synaptique, modèles Hodgkin-Huxley, modèles intègre-et-tire.

---

# Dynamics of neuronal excitability : theoretical and numerical investigations

## Abstract

Neurons generate electrical spikes in an all-or-none manner : a stereotypical action potential is produced and propagated whenever the stimulus amplitude is large enough, and not triggered otherwise. The minimal amplitude above which a spike is initiated is called the excitability threshold. Recent *in vivo* experiments have shown that this threshold can be highly variable. Moreover, it has been observed that the threshold can be adapted to the recent membrane activity history. These observations were of particular interest because they seemed to challenge fundamental hypotheses in the biophysics of excitability, and classical conceptions of synaptic integration. We raised then the following questions : How and to what extent do the different biophysical excitability mechanisms contribute to threshold variability? More specifically, what is the impact of sodium channel inactivation on spike threshold dynamics? We have tackled these questions by analyzing and simulating different mathematical models of neuronal excitability. First, we have observed that standard models can account for the significant threshold variability. This variability can be predicted from the dynamics of the biophysical excitability variables. Secondly, we have confirmed that sodium channel inactivation can account for the different threshold characteristics. Thus, our work confirms the relevance of threshold models for describing the dynamics of neuronal excitability.

**Keywords :** neuron, action potential threshold, sodium channel, synaptic integration, Hodgkin-Huxley models, integrate-and-fire models.

---

## Résumé substantiel

Au cours de ce travail de thèse, nous avons étudié différentes questions liées à l'initiation des potentiels d'action dans les neurones du système nerveux central. L'objet d'étude principal de ce travail est le phénomène de seuil d'excitabilité : un potentiel d'action est généré si l'intensité du stimulus dépasse une valeur critique et n'est pas généré sinon. Des observations récentes *in vivo* ont mis en évidence que ce seuil pouvait présenter une forte variabilité et pouvait être adapté à la dynamique du potentiel membranaire. Nous avons étudié dans quelle mesure ces observations sont prédites par le modèle Hodgkin-Huxley. Ce modèle biophysique constitue le fondement de la modélisation de l'excitabilité en neurophysiologie.

Dans une première étude, nous avons montré que ce modèle permet bien d'obtenir une variabilité significative du seuil. Il a été souligné récemment que de nombreux artefacts peuvent contribuer à cette variabilité. Cependant, nous avons mis en évidence que les mécanismes biophysiques de l'excitabilité apportent une contribution majeure à la variabilité du seuil. Dans une seconde étude, nous avons étudié spécifiquement l'influence de l'inactivation du canal sodium sur la dynamique du seuil. Ce mécanisme biophysique est fondamental pour la régulation de l'excitabilité. Nous avons montré à partir d'une simplification du modèle Hodgkin-Huxley que ce mécanisme permet de rendre compte des différentes caractéristiques de la dynamique du seuil observée *in vivo*.

Ces études théoriques et numériques nous ont amenés à établir une équation permettant de prédire la valeur instantanée du seuil à partir de la dynamique des variables du modèle Hodgkin – Huxley. Cette équation, présentée dans la première étude, a été validée par des simulations numériques de modèles biophysiques de l'excitabilité neuronale. Cette équation nous a permis, dans la seconde étude, d'établir des conditions sur les caractéristiques de l'inactivation du canal sodium pour obtenir une variabilité potentielle du seuil. Elle nous a rendu possible la prédiction de la dynamique du seuil induite par l'inactivation. Enfin, cette étude nous a conduit à proposer la notion de potentiel post-synaptique effectif : du point de vue de l'intégration synaptique, la forme d'un potentiel post-synaptique est aussi déterminée par le déroulement temporel de l'inactivation. Cette notion nous a permis de décrire plus quantitativement les propriétés des neurones dans la transmission du signal, mises en évidence par les observations *in vivo* sur le seuil.

Notre travail a permis ainsi de confirmer la pertinence du modèle Hodgkin-Huxley pour la description de l'excitabilité neuronale dans les conditions naturelles. Il a de plus apporté une estimation quantitative du seuil à partir de la connaissance des mécanismes biophysiques de l'excitabilité. Enfin, il a souligné l'importance de la prise en compte de l'inactivation du canal sodium pour la description de l'intégration synaptique.



---

### Substantial abstract

We have studied different theoretical and numerical aspects of action potential initiation in neurons of the central nervous system. In particular, we looked at the excitability threshold phenomenon : an action potential is generated whenever the stimulus intensity exceeds a critical value, otherwise it is not generated. Recent *in vivo* observations have suggested that this threshold can be highly variable and can adapt to the recent membrane activity history. We have studied the question of whether these observations can be accounted for by the Hodgkin Huxley model. This biophysical model is considered as the cornerstone of theoretical neurophysiology. In a first study, we have shown that this model can exhibit a high threshold variability, suggesting a potential deterministic regulation of excitability on a short time scale. In a second study, we have studied specifically the role of sodium channel inactivation in spike threshold dynamics. This biophysical mechanism is well known for regulating cell excitability. We have shown using a toy biophysical model that threshold dynamics observed *in vivo* is well accounted for by this mechanism. These studies lead us to propose a biophysical equation for the threshold. This equation was established and validated on realistic central neuron models in our first study. It allowed us to set, in the second study, conditions on sodium channel inactivation for a variable and dynamic threshold. It also gave us a theoretical framework for a quantitative study of the impact of this inactivation on synaptic integration. We propose the notion of effective postsynaptic potential : in order to predict spike triggering from synaptic events pattern, we suggest that inactivation time course should be taken into account. This notion helped us to better quantify synaptic integration properties of spike threshold dynamics. Our work confirms the validity of Hodgkin Huxley type models for central neurons in natural conditions. It gives a quantitative account of threshold determination by different biophysical mechanisms. Finally, it strengthens the importance of sodium channel inactivation in synaptic integration.

# Table des matières

<b>Introduction</b>	<b>xi</b>
<b>1 Théorie de l'excitabilité membranaire</b>	<b>1</b>
1.1 L'excitabilité membranaire avant Hodgkin et Huxley . . . . .	1
1.2 Le modèle Hodgkin-Huxley . . . . .	3
1.3 Phénomènes de seuil d'excitabilité . . . . .	14
<b>2 Excitabilité neuronale fluctuante</b>	<b>21</b>
2.1 Neurone numérique . . . . .	21
2.2 Dynamique du signal d'entrée <i>in vivo</i> . . . . .	29
2.3 Modèles intègre-et-tire . . . . .	38
2.4 Seuil d'impulsion <i>in vivo</i> . . . . .	43
<b>3 Bases moléculaires de l'excitabilité</b>	<b>57</b>
3.1 Les canaux ioniques sont des protéines . . . . .	57
3.2 Mécanismes d'ouverture . . . . .	64
3.3 Le seuil d'excitabilité comme phénotype . . . . .	71
<b>4 Résultats</b>	<b>75</b>
4.1 Une équation seuil pour l'initiation des potentiels d'action . . . . .	75
4.2 Effet de l'inactivation du canal sodium . . . . .	97
<b>5 Discussion</b>	<b>123</b>
5.1 Critiques de l'analyse . . . . .	123
5.2 Implications . . . . .	134
<b>6 Perspectives</b>	<b>143</b>
<b>Conclusion</b>	<b>149</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>153</b>



# Introduction

---

L'objet d'étude de notre thèse porte sur l'activité électrique des neurones du système nerveux central. Plus précisément, nous nous sommes concentrés sur l'étude de l'initiation des potentiels d'action dans ces neurones. Ce problème, très classique en neurophysiologie, a été beaucoup mieux compris après les travaux fondateurs de Hodgkin et Huxley, essentiellement de 1939 à 1952. Leurs travaux, associant enregistrements électrophysiologiques *in vitro* dans l'axone du calamar et analyse mathématique d'équations différentielles, ont conduit à un modèle qui s'est avéré fondamental en neurophysiologie. Leur modèle a apporté à la fois une description mécanistique du phénomène de génération de potentiel d'action et des équations prédisant avec précision les différentes caractéristiques de ce phénomène. Cependant, des observations récentes *in vivo* dans les neurones centraux ont apporté des éléments nouveaux à ce problème. Il a en effet été mis en évidence que ce phénomène est caractérisé par une grande variabilité et adaptabilité. Ces traits caractéristiques n'ont pu être observés que récemment, étant donné les progrès réalisés ces dernières décennies dans les techniques d'enregistrement intracellulaire *in vivo*.

Ces observations nous ont particulièrement intéressé car elles semblaient bousculer une des conceptions classiques de l'intégration synaptique : un neurone transmet un signal lorsque son potentiel membranaire dépasse un seuil fixe. De plus, certains auteurs de ces observations suggéraient un lien avec les mécanismes de sélectivité sensorielle. Nous avons donc entrepris d'étudier ces phénomènes à partir d'approches théoriques et numériques. Il semblait que ces approches étaient complémentaires des études effectuées sur ce sujet. Ce sujet avait été en effet abordé expérimentalement dans différentes aires du cerveau et numériquement à partir du modèle Hodgkin-Huxley, mais à notre connaissance aucun travail théorique récent n'avait abordé directement cette question.

De façon intéressante, ce problème nous a conduit à nous pencher plus en détail sur les fondations moléculaires de l'excitabilité et sur les simulations numériques des modèles Hodgkin-Huxley pour les neurones centraux. Le problème majeur qui est ressorti de notre travail étant lié au modèle HH, nous commencerons par la description de ses motivations, ses hypothèses et ses analyses mathématiques au chapitre 1. Au chapitre 2, nous essaierons de poser le cadre empirique de notre travail. Nous verrons comment les enregistrements *in vivo* dans les neurones centraux ont renouvelé le problème de l'initiation des potentiels d'action. Nous mettrons en particulier l'accent sur l'opposition avec les expériences *in vitro*, pour lesquelles les comportements sont beaucoup moins fluctuants et dynamiques. Nous essaierons aussi de présenter les différents cadres théoriques relatifs à ce problème. Au chapitre 3, nous présenterons succinctement les travaux récents sur les aspects moléculaires de l'initiation des potentiels d'action. Nous verrons que dans cette perspective le modèle Hodgkin-

Huxley peut avoir une nouvelle interprétation. Nous présenterons alors au chapitre 4, les deux études constituant nos résultats. Dans la première étude, nous avons abordé le problème de l'origine de la variabilité du seuil. La problématique de cette étude était : dans quelle mesure les modèles Hodgkin-Huxley de neurones centraux prédisent une variabilité significative du seuil d'excitabilité ? Dans la seconde étude, nous avons abordé le problème de la dynamique du seuil. Nous nous sommes posés la problématique suivante : dans quelle mesure l'inactivation du canal sodium permet de reproduire les caractéristiques de la dynamique du seuil observées *in vivo* ? Au chapitre 5, nous discuterons de la plausibilité de nos hypothèses et évaluerons les réponses apportées à ces problématiques. Enfin au chapitre 6, nous suggérerons des expériences ou des méthodes expérimentales pour valider notre travail et apporter de nouvelles questions.

# Théorie de l'excitabilité membranaire pour l'axone du calamar

---

Notre travail repose essentiellement sur le modèle Hodgkin-Huxley (HH). Il est donc crucial de le décrire avec précision pour bien comprendre notre analyse. En le décrivant, nous tâcherons de rappeler le contexte et les problématiques de Hodgkin et Huxley, pour bien délimiter les objectifs du modèle. Nous récapitulerons ensuite l'ensemble des hypothèses du modèle, en commentant leur interprétation physique. Cela permettra de voir clairement par la suite celles sur lesquelles notre étude se base et celles que nous n'avons pas fait intervenir. Nous exposerons alors la formulation mathématique du modèle pour l'initiation et la propagation. Enfin, nous résumerons les études classiques du phénomène de seuil d'excitabilité dans ce modèle par la dynamique des systèmes.

## 1.1 L'excitabilité membranaire avant Hodgkin et Huxley

### Phénomènes observés

Le saut conceptuel réalisé par Hodgkin et Huxley n'aurait pas été possible sans le développement des techniques d'enregistrements électrophysiologiques qui a accompagné leurs travaux. Deux techniques essentiellement ont été mises au point : l'enregistrement intracellulaire développé par Hodgkin and Huxley (1939); Curtis and Cole (1940); la mesure en voltage imposé ("voltage clamp") développée par Marmont (1949); Cole (1949); Hodgkin et al. (1949, 1952). Autrement dit, les phénomènes observés avant les travaux de Hodgkin et Huxley provenaient essentiellement d'enregistrements extracellulaires en courant imposé ("current clamp"). Cela contraignait fortement le type d'observation possible et réduisait beaucoup la précision de la mesure.

Une des expériences typiques en courant imposé consiste à injecter un créneau de courant d'amplitude variable et de mesurer la réponse du potentiel membranaire. Le principal phénomène observé avec cette technique est connu sous le nom de loi tout-ou-rien : si l'amplitude du créneau est suffisamment grande, un potentiel d'action (PA) est généré ; autrement, le potentiel membranaire évolue sans qu'il y ait génération de potentiel d'action (Lucas, 1909; Rosenblueth, 1935). De plus, la forme

des potentiels d'action est stéréotypée, c'est-à-dire qu'elle ne dépend pas de la dynamique de la stimulation. Rappelons qu'un potentiel d'action peut être défini comme une forme typique du décours temporel du potentiel membranaire  $V(t)$  : une phase de montée très rapide de  $V$  jusqu'à des valeurs très élevées par rapport à la valeur de repos  $V_R$  ; une phase de descente très rapide jusqu'à des valeurs inférieures à  $V_R$  ; une remontée plus lente de  $V$  jusqu'à  $V_R$  (voir Fig. 1.1).

Par ailleurs, des phénomènes analogues avaient été observés pour la propagation de la dépolarisation le long de l'axone. La loi tout-ou-rien relative à la propagation peut être formulé ainsi : si l'amplitude du créneau est suffisamment grande, un potentiel d'action est généré et propagé le long de l'axone ; autrement, le potentiel n'évolue qu'autour du point d'injection. De plus, la forme typique des potentiels d'action est conservée au cours de la propagation. Ces phénomènes décrits constituaient les principaux aspects de l'excitabilité connus avant les travaux de Hodgkin et Huxley, qui s'étalent de 1939 à 1952 (Hille, 2001).

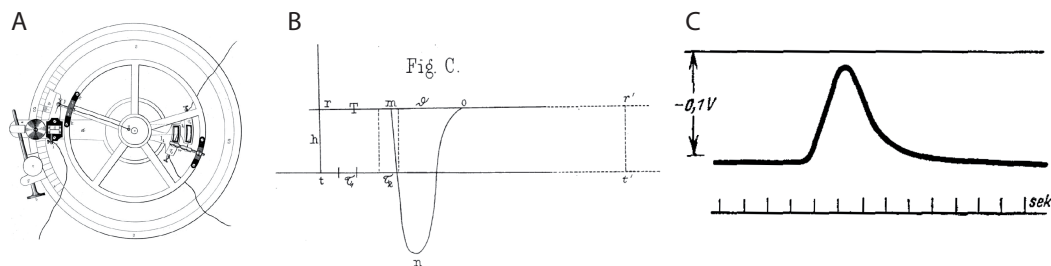


FIGURE 1.1 – Enregistrements historiques de potentiel d'action. A. Rhéotome différentiel développé par Bernstein (1860). La roue rotatrice mesure la réponse électrique d'un muscle à une stimulation électrique, à un instant donné. B. Premier enregistrement (extracellulaire) d'un potentiel d'action par la technique du Rhéotome différentiel (1868). C. Premier enregistrement intracellulaire d'un potentiel d'action d'une cellule de plante (*Nitellia*) par Umrath (1930).

## Hypothèses et connaissances

Avant 1930, il n'y avait pas de consensus sur le mécanisme de génération des PA (Hille, 2001) : certains physiologistes doutaient de l'existence même de la membrane ; d'autres pensaient que le PA était un épiphénomène d'une réaction chimique ; enfin, des physiologistes, comme Hermann ou Bernstein, étaient convaincus que la membrane était un milieu électrique et que le phénomène de génération de PA était un changement brusque de propriétés électriques. Néanmoins, il était connu que la membrane cellulaire sépare des concentrations ioniques très différentes : le milieu intracellulaire étant riche en potassium et le milieu extracellulaire en sodium.

C'est la dernière hypothèse qui a été privilégiée et qui constitue le point de départ des travaux de Hodgkin et Huxley. Cette hypothèse a été notamment confirmée par les travaux de Cole et Curtis (Hille, 2001). Ces derniers ont effectué l'ensemble de leurs

mesures en se plaçant dans l'hypothèse où la membrane est un milieu électrique. Pour bien comprendre leur démarche, il faut se rappeler que dans cette hypothèse la membrane est conçue comme un circuit électrique linéaire. Dans ce cadre, le caractère d'isolant électrique de la membrane est modélisé par une capacitance. La perméabilité aux ions est modélisée par une conductance en parallèle avec la capacitance. Enfin, le potentiel membranaire résiduel en l'absence de courant injecté, est modélisé par une batterie de force électromotrice  $E$ . Ils ont effectué de nombreuses mesures de ces grandeurs qui se sont révélées cruciales par la suite : le PA s'accompagne d'une augmentation brusque et importante de la conductance, alors que la capacitance reste constante ; l'initiation des PA est accompagnée d'un courant membranaire intrinsèque ; durant la génération de PA, le potentiel devient très élevé par rapport à la valeur de repos et tend vers le potentiel de Nernst pour les ions sodium ( $E_{Na}$ ) ; le potentiel de repos est donné par le potentiel de Nernst pour les ions potassium ( $E_K$ ). Toutes ces observations peuvent être obtenues dans le modèle HH, mais n'ont pas été expliquées par Cole et Curtis. Cela était lié principalement à leur réticence à remettre en cause l'hypothèse du circuit équivalent linéaire et à proposer un mécanisme moléculaire de l'excitabilité (Hille, 2001).

## 1.2 Le modèle Hodgkin-Huxley

### Hypothèses

Nous allons maintenant énumérer les différentes hypothèses du modèle HH et donner leurs interprétations physiques. Il est important de rappeler qu'aucune information n'existait sur la structure moléculaire de la membrane, à l'époque des travaux de Hodgkin et Huxley. Par conséquent, toutes les hypothèses faites sur les mécanismes moléculaires de l'excitabilité n'avaient aucun fondement empirique. Nous essaierons dans la mesure du possible de les décrire sans apporter nos connaissances modernes, afin de mieux cerner les objectifs du modèle :

- Le courant membranaire peut être décomposé en une superposition linéaire des différentes contributions ioniques, en excluant le courant de capacité :

$$I_M - C \frac{dV}{dt} = \sum_{ion} I_{ion}$$

où  $I_M$ ,  $V$ ,  $C$  représentent respectivement le courant, le potentiel et la capacité membranaire et  $I_{ion}$  est le courant induit par le flux d'un type d'ion à travers la membrane. Cette hypothèse suppose qu'il n'y a pas d'interaction entre les différents flux ioniques.

- Les courants ioniques dépendent uniquement du potentiel membranaire :

$$I_{ion} = I_{ion}(V)$$

et non des concentrations ioniques par exemple. Cela suppose que les ions se déplacent librement dans le milieu cellulaire, ou encore que la probabilité



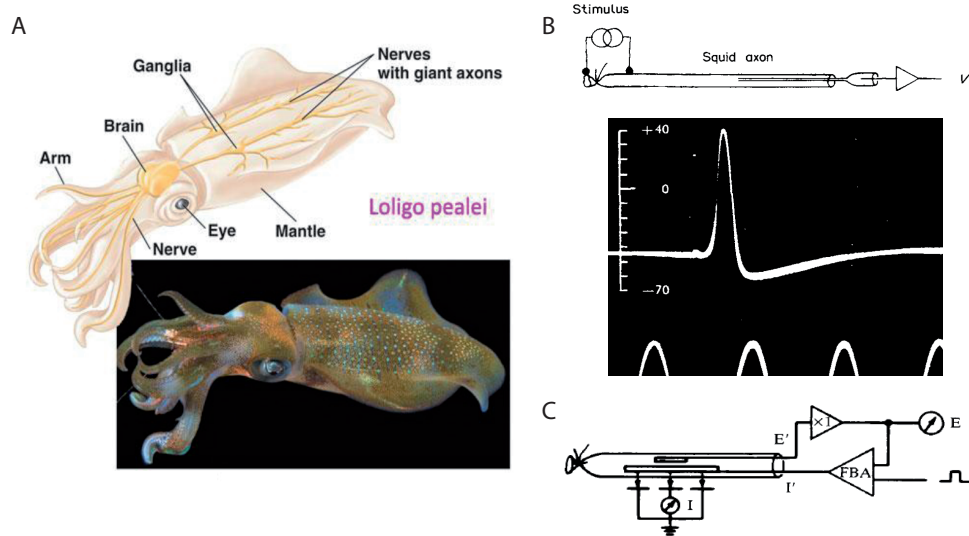


FIGURE 1.2 – Le travail expérimental de Hodgkin et Huxley. A. Les enregistrements électrophysiologiques ont été réalisés dans l'axone géant du calamar (diamètre  $\approx 1$  mm). Cet axone intervient dans le mécanisme de réflexe de fuite du calamar. C. Enregistrement d'un potentiel d'action (déroulement temporel du potentiel) au moyen d'une électrode, constituée d'un tube capillaire rempli d'eau de mer et introduit à l'intérieur de l'axone. (Extrait de Rinzel (1990)) B. Les techniques d'enregistrement utilisées pour déterminer les mécanismes de génération du potentiel d'action ont fait essentiellement appel à la technique dite du voltage imposée. Cela consiste à maintenir le potentiel membranaire à une valeur contrôlée, tout en mesurant le courant membranaire résultant. (Extrait de Rinzel (1990))

pour un ion donné de traverser la membrane ne dépend pas de la présence des autres ions.

- Le courant pour un ion donné change de sens au potentiel d'équilibre de cet ion :

$$I_{ion} = f(V - E_{ion})$$

où  $f$  est une fonction changeant de signe uniquement en  $V = E_{ion}$ . Cela suppose que le flux ionique est simplement un phénomène de diffusion. Autrement dit, les ions traversent la membrane pour compenser le gradient de concentration ionique.

- La loi d'Ohm s'applique pour chaque courant ionique :

$$I_{ion} = g_{ion}(V - E_{ion})$$

où  $g_{ion}$  est la conductance associée à l'ion considéré. Cela suggère implicitement que le gradient de concentration ionique n'est pas trop élevé. Du point de vue de la biologie moléculaire, cela suppose que la structure des canaux ioniques est symétrique (Hille, 2001).

- Les ions intervenant dans la génération de PA dans l'axone du calamar sont uniquement les ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$  :

$$\sum_{ion} I_{ion} = I_{Na} + I_K$$

- La conductance potassium peut s'écrire sous la forme :

$$g_K = \bar{g}_K n^4$$

avec  $\bar{g}_K$  la conductance potassium maximale et  $n$  une variable adimensionnée comprise entre 0 et 1. Cela a une interprétation physique suggérée par Hodgkin et Huxley. Dans cette interprétation, le flux des ions  $\text{K}^+$  s'effectue à travers des pores situés sur la membrane et pouvant être fermés par des particules. Aucun mécanisme précis n'est postulé pour la sélectivité, mais pour faciliter la compréhension, nous dirons que les pores sont sélectifs à un type d'ions.  $g_K/\bar{g}_K$  correspond à la fraction de pores ouverts parmi les pores sélectifs aux ions  $\text{K}^+$ . C'est donc une grandeur à l'échelle cellulaire, quantifiant le degré d'ouverture d'une population de pores. Hodgkin et Huxley proposent de considérer qu'il y a uniquement quatre particules indépendantes contrôlant l'ouverture de tous les pores sélectifs à  $\text{K}^+$ . Dans cette interprétation,  $n$  représente alors la proportion de pores ouverts si une seule des particules était présente. Nous verrons dans le chapitre 3 qu'une autre interprétation est possible, en terme de canal individuel, chacun contrôlé indépendamment. De plus, en termes modernes, nous parlerons de portes au lieu de particules.

- De façon analogue, la conductance sodium peut s'écrire sous la forme :

$$g_{Na} = \bar{g}_{Na} m^3 h$$

avec  $\bar{g}_{Na}$  la conductance sodium maximale et  $m, h$  deux variables indépendantes comprises entre 0 et 1. L'interprétation physique de cette expression est analogue à la précédente. Il est toujours supposé un ensemble de pores sélectifs aux ions  $Na^+$ , dont l'ouverture est contrôlée par quatre particules indépendantes. Néanmoins, un mécanisme plus subtil est proposé pour cette conductance ionique. Parmi les particules, ils distinguent : celles dites d'activation, au nombre de trois et liées à la variable  $m$  ; celle dite d'inactivation, liée à  $h$ . Plus précisément,  $m$  représente la proportion de pores ouverts si seule une des particules d'activation était présente.  $h$  représente la proportion de pores ouverts si seule la particule d'inactivation était présente.

- La dynamique des variables  $n, m$  ou  $h$  est décrite par l'équation différentielle de la forme suivante :

$$\frac{dw}{dt} = \alpha_w(1 - w) + \beta_w w$$

où  $w$  représente  $n, m$  ou  $h$ .  $\alpha_w$  et  $\beta_w$  correspondent à des taux de transition. Hodgkin et Huxley interprètent cette équation comme la description d'une réaction chimique, obéissant à une cinétique du premier ordre, subie par les particules.

- Les probabilités de transition sont dépendantes uniquement du potentiel membranaire :

$$\alpha_w = \alpha_w(V) \quad \beta_w = \beta_w(V)$$

Cela a été interprété physiquement par Hodgkin et Huxley comme le fait que les particules sont chargées ou constituent des moments dipolaires, et sont donc soumises au champ électrique membranaire.

De l'énumération de ces hypothèses, nous pouvons retenir quelques points essentiels. Tout d'abord, même si le modèle HH fait appel aux mécanismes moléculaires pour décrire l'excitabilité, nous dirons en terme moderne que ce n'est pas un modèle de canal ionique. Il ne considère les mécanismes de régulation du flux ionique que sous l'angle de population de canaux. Il est important de noter que le nombre de particules envisagé est un nombre global et ne correspond donc pas au nombre de particules par canal. Cela implique que ce modèle est purement déterministe et ne fait pas intervenir directement la probabilité d'ouverture des canaux. Nous verrons dans le chapitre 3, comment obtenir ce modèle HH déterministe à partir d'un modèle stochastique de canal individuel. Ensuite, le modèle HH est un mélange subtil d'approche phénoménologique et mécanistique. Leur analyse a consisté à reproduire les données expérimentales de façon purement empirique, tout en étant aidée par leurs intuitions sur les mécanismes moléculaires de l'excitabilité. Il est important de noter que leur motivation première était de donner un mécanisme moléculaire du phénomène d'excitabilité (Hodgkin, 1963; Huxley, 2002). Mais au final, leur principal travail a été d'établir une équation pour la dynamique du potentiel membranaire. Ainsi, il n'est pas étonnant que leurs hypothèses moléculaires se soient révélées partiellement fausses, comme nous le verrons dans le chapitre 3. Cela justifie par ailleurs le fait que ce modèle reste valide pour décrire l'excitabilité à l'échelle

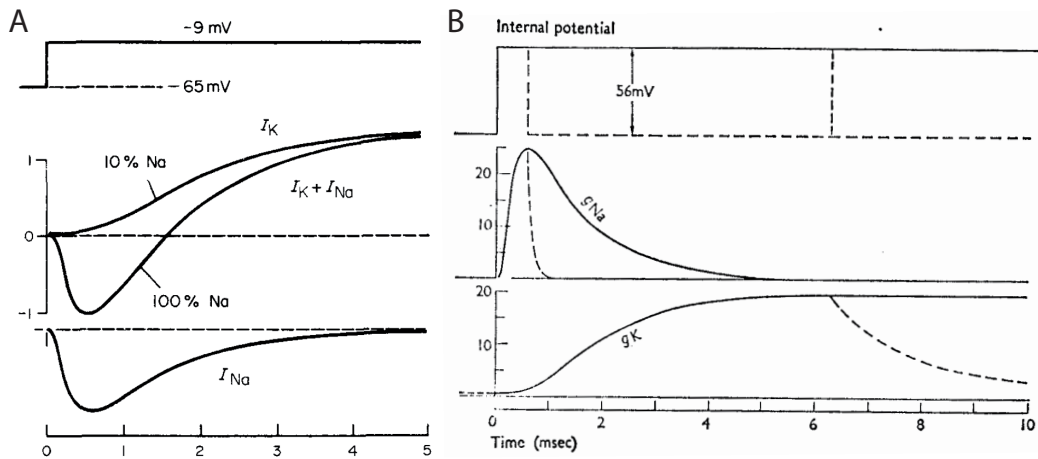


FIGURE 1.3 – Quelques hypothèses fondamentales du modèle Hodgkin-Huxley. A. Le courant membranaire peut être décomposé en une superposition linéaire des courants ioniques : courants sodium ( $I_{Na}$ ) et potassium ( $I_K$ ). Courants mesurés à la membrane de l'axone du calamar, en réponse à un créneau de voltage (en haut). (Au centre) courants membranaires pour un milieu naturel et un milieu appauvri en ion sodium. (En bas) différence entre ces deux courants mesurés. (Extrait de Rinzel (1990)) B. La perméabilité membranaire est une grandeur dynamique. (En haut) Créneaux de voltage imposé de durée illimitée (ligne continue) et de durée limitée (lignes pointillées). (Au centre) Réponse de la conductance sodium instantanée ( $g_{Na}$ ) aux différentes stimulations. (En bas) Réponse de la conductance potassium instantanée ( $g_K$ ) aux différentes stimulations. Deux processus sont nécessaires pour décrire la réponse de la conductance Na à des créneaux de voltage : un processus dit d'activation responsable de la montée de  $g_{Na}$  et un processus dit d'inactivation responsable de la retombée de  $g_{Na}$ . Seul un processus d'activation suffit pour décrire la dynamique de la conductance K. (Extrait de Hille (1970))

cellulaire (Rinzel, 1990; Meunier and Segev, 2002; McCormick et al., 2007; Bean, 2007; Noble, 2007). Enfin, des hypothèses qui nous paraissent évidentes aujourd'hui, comme la décomposition du courant membranaire en somme de courants ioniques ou la loi d'Ohm appliquée au courant ionique, ont été apportées par les travaux de Hodgkin et Huxley.

### Equations d'initiation des potentiels d'action

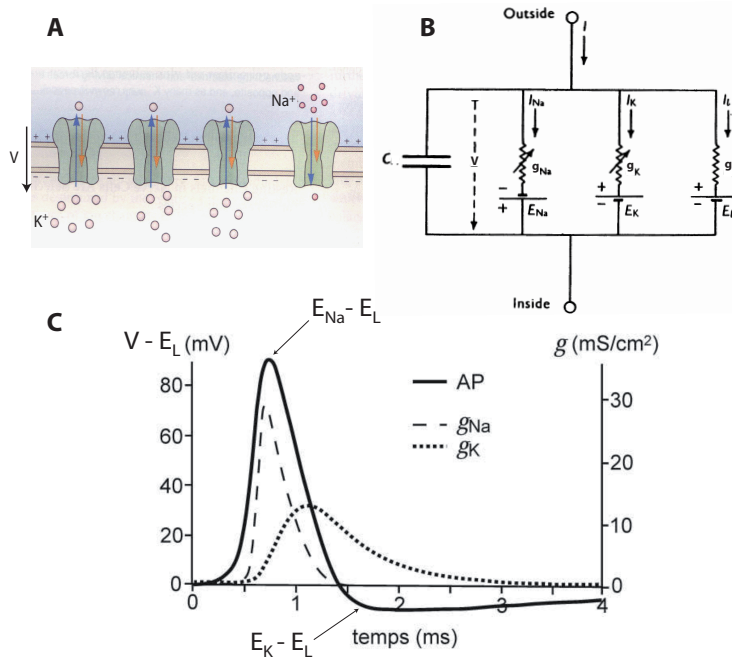


FIGURE 1.4 – Initiation des potentiels d'action dans le modèle Hodgkin-Huxley. A. Schéma anatomique de la membrane de l'axone du calamar. La dynamique du potentiel membranaire est causée par les flux des ions sodium et potassium à travers la membrane. (Extrait de Kandel et al. (2000)) B. Schéma du circuit électrique équivalent aux propriétés de la membrane. La signification des paramètres est donnée pour les Equations 3.2. (Adapté de Hodgkin and Huxley (1952)) C. Décours temporels des grandeurs caractéristiques prédites par les équations HH d'initiation (Eq. 3.2). (Adapté de Hodgkin and Huxley (1952))

Nous allons maintenant présenter l'ensemble des équations différentielles du modèle HH pour l'initiation des PA. Ces équations décrivent la dynamique des différentes variables impliquées, sans tenir compte de leur variation spatiale. Du point de vue physique, cela revient à considérer un axone isopotentiel. En pratique, cela correspond à la situation expérimentale utilisant la technique d'espace imposé ("space clamp"), qui empêche les variations spatiales du potentiel membranaire le long de l'axone.

Le modèle HH comporte quatre variables, dont les dynamiques obéissent toutes

à des équations différentielles du premier ordre :

$$C \frac{dV}{dt} = \bar{g}_{Na} m^3 h (E_{Na} - V) + \bar{g}_K n^4 (E_K - V) + g_L (E_L - V) + I \quad (1.1)$$

$$\frac{dm}{dt} = \alpha_m(V)(1 - m) + \beta_m(V)m \quad (1.2)$$

$$\frac{dh}{dt} = \alpha_h(V)(1 - h) + \beta_h(V)h \quad (1.3)$$

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(V)(1 - n) + \beta_n(V)n \quad (1.4)$$

Les différentes variables impliquées dans ce modèle sont : le potentiel membranaire  $V$  et le courant injecté  $I$  caractérisant l'activité électrique de la membrane ; la capacité  $C$ , la conductance de fuite  $g_L$  et le potentiel de fuite  $E_L$  caractérisant les propriétés électriques passives de la membrane ; les conductances maximales du sodium  $\bar{g}_{Na}$  et du potassium  $\bar{g}_K$  et les potentiels d'équilibre correspondants  $E_{Na}$  et  $E_K$ , caractérisant les propriétés électriques actives de la membrane ; les variables ioniques adimensionnées  $m$ ,  $h$  et  $n$  comprises entre 0 et 1 et caractérisant le degré de perméabilité de la membrane. Il est intéressant de faire remarquer que les équations dynamiques des variables ioniques peuvent être réécrites sous la forme :

$$\frac{dw}{dt} = \frac{w_\infty(V) - w}{\tau_w(V)} \quad (1.5)$$

où  $w_\infty = \frac{\alpha_w}{\alpha_w + \beta_w}$  et  $\tau_w = \frac{1}{\alpha_w + \beta_w}$  représentant respectivement la valeur à équilibre de  $w$  et le temps caractéristique d'atteinte de cet équilibre, lorsque le potentiel est imposé ( $w$  représente  $m$ ,  $h$  ou  $n$ ). Cette dernière formulation permet de mieux mettre en évidence le comportement dynamique du système. Enfin, la dépendance au voltage des taux de transition associés à ces variables ioniques est aussi donnée par le modèle HH :

$$\alpha_m(V) = \frac{25 - V}{10 (e^{(25-V)/10} - 1)}$$

$$\beta_m(V) = 4e^{-V/18}$$

$$\alpha_h(V) = 0.07e^{-V/20}$$

$$\beta_h(V) = \frac{1}{e^{(30-V)/10} + 1}$$

$$\alpha_n(V) = \frac{10 - V}{100 (e^{(10-V)/10} - 1)}$$

$$\beta_n(V) = 0.125e^{-V/80}$$

les unités des paramètres étant de telle sorte que les taux soient exprimés en ms. De nombreux modèles d'excitabilité, spécifiques aux neurones ou à d'autres types de cellules, sont inspirés de ce modèle original. Pour ces modèles, d'autres courants ioniques peuvent être pris en compte, d'autres dépendances en voltage peuvent être utilisées pour les taux de transition et d'autres valeurs des exposants peuvent être

choisies. Néanmoins, il est généralement considéré que les quatre équations dynamiques (Eqs. 3.2) en constituent l'élément commun.

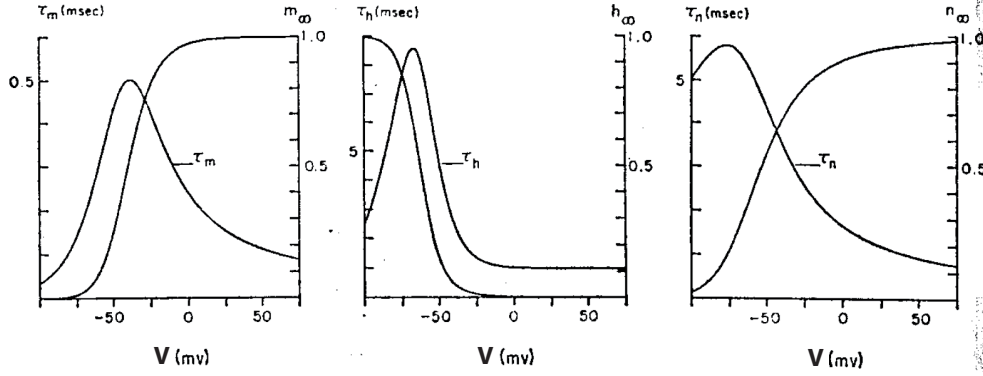


FIGURE 1.5 – Paramètres voltage-dépendants du modèle Hodgkin-Huxley. Dépendance au voltage des valeurs à l'équilibre et des constantes de temps des différentes variables ioniques du modèle HH. Ces courbes ont été mesurées dans l'axone du calamar à 6,3°C. (Extrait de Hille (1970))

Par ailleurs, il est intéressant de compter le nombre de paramètres libres du modèle pour bien concevoir ses limites du point de vue mathématique. Concernant les paramètres membranaires, nous pouvons compter 7 paramètres libres. Concernant les paramètres ioniques, le décompte n'est pas possible pour cette formulation du modèle car il n'y a pas d'expression mathématique explicite des taux de transition. Néanmoins, nous pouvons nous référer à la variante du modèle HH donnée par Mainen et al. (1995) où les taux de transition ont une expression mathématique générique :

$$\alpha_w(V) = \frac{A(V - V_a)}{1 - e^{-(V - V_a)/k_a}} \quad \beta_w(V) = \frac{-B(V - V_b)}{1 - e^{(V - V_b)/k_b}} \quad (1.6)$$

où A, B sont des constantes (en  $1/(mVms)$ ) ;  $V_a$ ,  $V_b$ ,  $k_a$  et  $k_b$  sont des constantes homogènes à des voltages. Nous pouvons alors compter 21 paramètres libres. Néanmoins, ceci est une surestimation car en pratique, l'interpolation des courbes expérimentales par ces fonctions donnent une certaine redondance dans les valeurs de ces paramètres. Par exemple, dans la variante donnée par Mainen et al. (1995), pour la majorité des variables ioniques les paramètres sont tels que  $V_a = V_b$  et  $k_a = k_b$ . Deux points peuvent ainsi être retenus de la formulation mathématique du modèle : il n'y a pas réellement de formulation explicite, si on considère l'expression des taux de transition comme faisant partie du modèle ; le nombre de degrés de liberté du modèle est très élevé.

A la lecture des expressions données dans le modèle HH pour les taux de transition, il est difficile d'en inférer une interprétation physique. Néanmoins, il est intéressant de faire remarquer que, même si Hodgkin et Huxley ont déterminé ces expressions de façon empirique, ils avaient en perspective une interprétation physique. Ils notent

en effet le lien formel entre les expressions des taux et celle relative à la distribution à l'équilibre de particules chargées dans un champ électrique constant, de part et d'autre de la membrane (donnée par une fonction de Boltzmann). De cette ressemblance, ils postulent que le mécanisme de régulation du flux ionique est contrôlé par des particules chargées.

### Vitesse de propagation des potentiels d'action

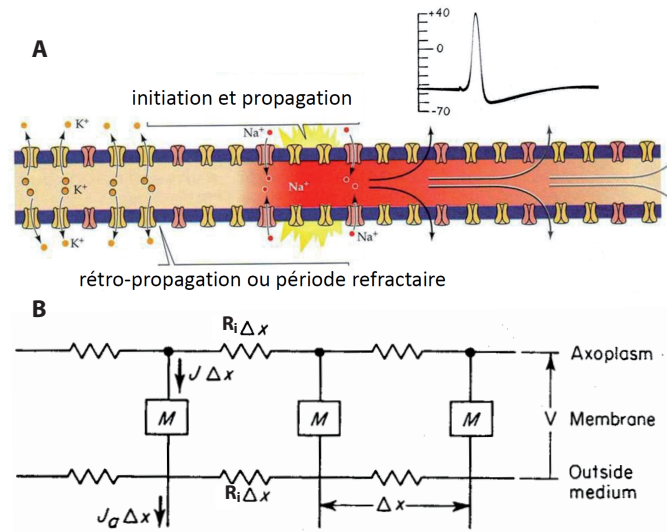


FIGURE 1.6 – Propagation des potentiels d'action dans le modèle Hodgkin-Huxley. A. Schéma anatomique de l'axone du calamar. L'initiation, la propagation et la rétro-propagation des PA se fait par l'intermédiaire des courants Na transmembranaires. La sélection d'une direction de propagation est réalisée principalement par le courant K. B. Schéma du circuit électrique équivalent aux propriétés de l'axone. M représente le circuit électrique équivalent élémentaire. Dans le cas du modèle HH, ce circuit est celui représenté Fig. 1.4.  $R_i$  représente la résistivité axiale.

Les équations HH peuvent être généralisées pour la description de la propagation des PA et cela a d'ailleurs été fait dès l'article fondateur (Hodgkin and Huxley, 1952). Néanmoins, cette généralisation n'est pas réellement un apport du modèle HH. Nous avons vu précédemment, que l'axone était considéré du point de vue électrique comme un circuit linéaire. Dans ce cadre, les équations de propagation avaient déjà été posées (Cole and Curtis, 1939), en s'inspirant des travaux de Lord Kelvin sur la propagation du potentiel le long d'un câble télégraphique sous-marin. Nous n'allons pas exposer le détail du raisonnement qui conduit à ces équations. Néanmoins, nous pouvons mentionner que la modélisation de la propagation consiste essentiellement : à considérer l'axone comme une série de circuits élémentaires, connectés par une résistance axiale  $R_i$  (voir Fig. 1.6) ; à prendre pour le circuit élémentaire, le circuit électrique équivalent précédent dans le cas du modèle HH (voir Fig. 1.4) ; à écrire



les équations électriques pour des circuits élémentaires placés à une distance finie les uns des autres ; à passer à la limite continue en considérant que cette distance tend vers zéro, pour l'échelle de description spatiale adoptée. Ce raisonnement et les calculs associés sont décrits beaucoup plus précisément dans les manuels classiques de neurophysiologie (Johnston and Wu, 1995; Koch, 1999). L'ensemble de ces étapes conduit à une équation de réaction-diffusion pour  $V$  et en particulier, nous avons le long d'un axone uni-dimensionnel :

$$\lambda^2 \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = \tau \frac{\partial V}{\partial t} + r_m (I_{ions} - I) \quad (1.7)$$

$$\lambda = \sqrt{\frac{d R_m}{4 R_i}} \quad (1.8)$$

où  $x$  est la variable d'espace,  $\lambda$  est la longueur caractéristique des variations spatiales de  $V$ , appelée constante d'espace,  $d$  est le diamètre de l'axone,  $R_m = \frac{1}{g_L}$  est la resistivité membranaire spécifique (en  $\Omega.cm^2$ ) et mesure la résistance au courant radial à travers une section unitaire de la membrane,  $r_m$  est la résistance membranaire (en  $\Omega.cm$ ) et mesure la résistance au courant radial à travers un cylindre de même diamètre que l'axone considéré et de longueur unitaire ( $r_m = \frac{R_m}{\pi d}$ ),  $R_i$  est la résistivité axiale (en  $\Omega.cm$ ) et mesure la résistance au courant le long de l'axone,  $I(x, t)$  est le courant injecté le long de l'axone et  $I_{ions}$  est la somme des courants ioniques. Dans le cas du modèle HH :

$$I_{ions} = -I_{Na} - I_K - I_L = \bar{g}_{Na} m^3 h (V - E_{Na}) + \bar{g}_K n^4 (V - E_K) + g_L (V - E_L)$$

Les équations relatives aux variables ioniques (Eqs. 1.5) restent inchangées. Néanmoins, les dérivées totales par rapport aux temps deviennent des dérivées partielles étant donné la dépendance de ces variables à  $x$  :

$$\frac{\partial w(x, t)}{\partial t} = \frac{w_\infty(V) - w(x, t)}{\tau_w(V)}$$

Nous allons maintenant résumer l'étude de Huxley (1959) sur la vitesse de conduction des PA. Cette étude est intéressante car elle fait appel à un raisonnement d'échelle pour établir un résultat analytique simple à partir des équations de propagation, difficiles à traiter analytiquement.

Nous commençons par considérer que la vitesse de conduction  $u$  est constante. Cela permet d'utiliser les techniques classiques pour la propagation d'onde progressive, en posant  $\epsilon = x - ut$  (car  $V(x, t) = V(\epsilon, 0)$ ). En remarquant que :

$$\frac{\partial \epsilon}{\partial x} = 1 \quad \frac{\partial \epsilon}{\partial t} = -u$$

nous avons alors pour les dérivées partielles :

$$\frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = \frac{\partial^2 V}{\partial \epsilon^2} \quad \frac{\partial^2 V}{\partial t^2} = u^2 \frac{\partial^2 V}{\partial \epsilon^2}$$

Ce qui donne la relation classique pour la propagation d'onde progressive :

$$\frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = \frac{1}{u^2} \frac{\partial^2 V}{\partial t^2}$$

L'équation de  $V$  pour la propagation peut être ainsi réécrite, en injectant cette relation dans l'équation de propagation, sous la forme :

$$\frac{1}{\kappa} \frac{d^2 V}{dt^2} = \frac{dV}{dt} + \frac{r_m}{\tau} I_{ions}$$

avec  $\kappa = \tau \left(\frac{u}{\lambda}\right)^2$  et en prenant  $I = 0$ . Il est intéressant de faire remarquer que cette analyse classique a été proposée dès l'article fondateur de Hodgkin et Huxley. A partir de ce dernier résultat, nous pouvons exposer le raisonnement d'échelle de Huxley. Pour cela, posons :  $\tau = \gamma \tau_0$  où  $\gamma$  est un facteur adimensionné et  $\tau_0$  une constante de temps fixée ;  $I_{ions} = \eta I_i$  où  $\eta$  est un facteur adimensionné et  $I_i$  une fonction homogène à un courant. L'équation précédente peut alors être réécrite sous la forme :

$$\frac{1}{\kappa} \frac{d^2 V}{dt^2} = \frac{dV}{dt} + \frac{\eta r_m}{\gamma \tau_0} I_i$$

Nous pouvons de plus poser le changement de variable  $I_i \leftarrow \frac{r_m}{\tau_0} I_i$ ,  $r_m$  et  $\tau_0$  étant supposées constantes :

$$\frac{1}{\kappa} \frac{d^2 V}{dt^2} = \frac{dV}{dt} + \frac{\eta}{\gamma} I_i$$

Huxley fait alors remarquer que pour chaque valeur de  $\eta/\gamma$  pour laquelle la propagation est possible, il existe une valeur de  $\kappa$  pour laquelle  $V$  est bornée. Cela implique notamment :

$$\kappa = f(\eta/\gamma)$$

où  $f$  est une fonction, déterminée numériquement par Huxley, étant donné la difficulté à l'obtenir analytiquement. Il s'avère que  $f$  est croissante sur tout l'intervalle d'étude. En reprenant l'expression de  $\kappa$ , nous pouvons enfin donner la dépendance de la vitesse de conduction aux paramètres biophysiques :

$$u^2 = \frac{\lambda^2}{\tau_0} \frac{f(\eta/\gamma)}{\gamma} \quad (1.9)$$

Plusieurs remarques physiologiques intéressantes peuvent être faites à partir de cette expression :

- En se rappelant que  $\lambda = \sqrt{\frac{d R_m}{4 R_i}}$ , nous retrouvons le résultat classique pour les axones non myélinisés  $u \propto \sqrt{d}$ . Autrement dit, la vitesse de propagation des PA croît comme la racine carrée du diamètre de l'axone. En présence d'une gaine de myéline, il peut être montré que cette vitesse croît linéairement avec le diamètre. Cela tient principalement au fait que la gaine de myéline renforce l'isolation électrique de l'axone (capacité réduite d'un facteur 250 et résistance augmentée d'un facteur 250). Ces estimations peuvent contribuer à l'explication de l'apparition dans l'évolution naturelle de la myéline dans le système nerveux (Harrison et al., 2002; Poliak and Peles, 2003).

- En se rappelant que  $\tau = \gamma\tau_0$ , cela donne une croissance de la vitesse de propagation avec la constante de temps d'intégration.
- La croissance de  $u$  avec  $\eta$  peut être interprétée comme le fait que la vitesse croît avec les conductances ioniques maximales.

Ainsi, nous venons de voir qu'un raisonnement dimensionnel simple permet déjà d'établir un certain nombre de résultats importants sur la dépendance de la vitesse de propagation aux paramètres biophysiques.

### 1.3 Phénomènes de seuil d'excitabilité

#### Définition

Nous avons évoqué qu'une des motivations principales de Hodgkin et Huxley était de décrire quantitativement la loi "tout-ou-rien". Implicitement dans cette loi est contenue la notion de seuil d'excitabilité. Cette notion donne une définition plus précise de la réponse "tout-ou-rien". En prenant pour le stimulus un créneau de courant, la loi "tout-ou-rien" peut être reformulée de la façon suivante : il existe une valeur critique de l'intensité du courant telle que si l'amplitude du créneau est plus grande que cette valeur, un PA est généré ; autrement, même si l'amplitude est juste inférieure à cette valeur, aucun PA n'est généré (cf. Fig. 1.7). Cette valeur critique est appelée ici seuil de courant. On pourrait donner une définition similaire pour un stimulus de type impulsion de courant. Le paramètre de contrôle est alors la charge du courant. Dans ce cas, la valeur critique est une valeur de la charge, appelée seuil de charge.

Nous pouvons mesurer les voltages associés à ces valeurs critiques. Pour cela, il suffit d'injecter un créneau de courant d'amplitude juste inférieure au seuil de courant et une impulsion de courant de charge juste inférieure au seuil de charge, et mesurer le pic de la réponse en voltage. De façon étonnante, nous observerons alors que cette valeur du voltage, appelée communément voltage seuil, est différente selon le stimulus (cf. Fig. 1.7). En fait, pour ces types de stimuli, le voltage n'étant pas directement contrôlé, ce paramètre donne une mesure approximative de la valeur critique d'excitabilité. Pour certains types de stimuli, le voltage peut même donner une estimation fautive du seuil (Kole and Stuart, 2008). Cela dépend en fait du lien entre le paramètre de contrôle et le voltage, dans le régime non-excitable. Néanmoins, il est très souvent fait référence à ce paramètre pour déterminer le seuil étant donné la facilité à le mesurer dans les enregistrements électrophysiologiques.

De là, nous pouvons en généraliser qu'il existe autant de paramètres critiques d'excitabilité qu'il existe de types de stimuli. Le paramètre critique sera toujours la valeur critique du paramètre contrôlé. Nous pouvons imaginer des exemples plus complexes que ceux cités précédemment. Par exemple, si le courant est de type sinusoïdale et que sa fréquence est contrôlée, on mesurera alors un seuil de fréquence.

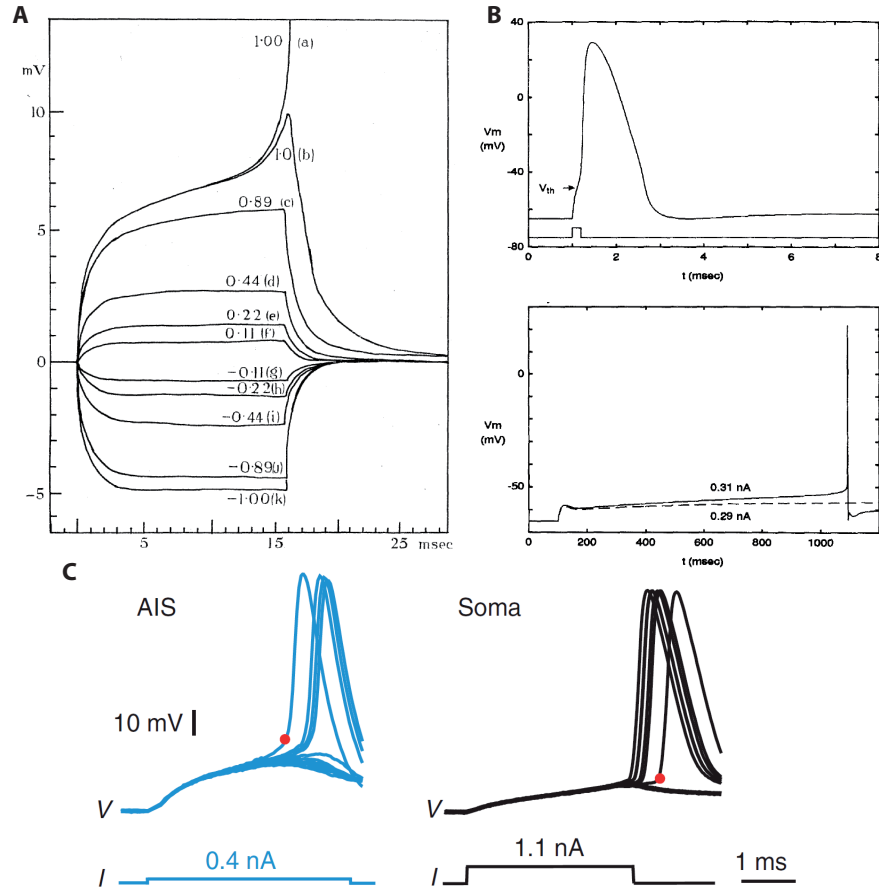


FIGURE 1.7 – Définitions du seuil. A. Le seuil peut être défini comme une valeur critique d'un paramètre de contrôle. Réponse de l'axone d'un crustacé à des créneaux de courant de différentes intensités. Les dépolarisations correspondent aux valeurs positives. Les valeurs indiquent l'intensité du courant appliqué relative à l'intensité seuil. (Extrait de Hodgkin and Rushton (1946)) B. Le choix du paramètre approprié pour quantifier le seuil dépend de la stimulation utilisée. Pour des stimulations impulsionnelles, le voltage (ou la charge) est le paramètre le plus approprié (en haut). Pour des stimulations lentes, le courant est le paramètre le plus approprié (en bas). Noter que le voltage au seuil est plus élevé pour des entrées rapides que pour des entrées lentes. Ces courbes proviennent de simulations numériques de modèle de type HH. (Extrait de Koch et al. (1995)) C. Le voltage peut donner une estimation fautive du seuil. Le potentiel a été mesuré en deux points du neurone : au segment initial de l'axone (AIS) et au soma. Dans ce cas, bien que l'intensité seuil soit inférieure au AIS qu'au soma, le voltage au seuil (point rouge) est plus élevé au AIS qu'au soma.

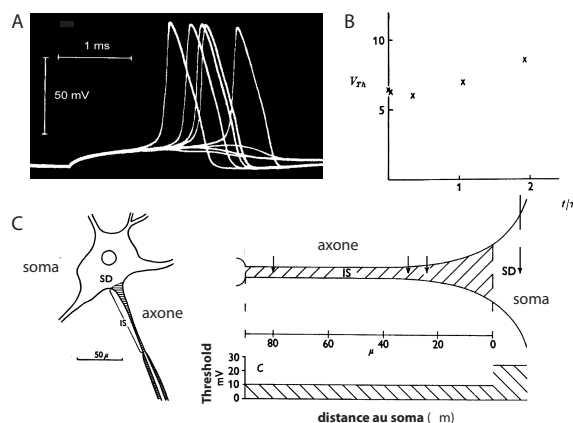
Observations *in vitro*

FIGURE 1.8 – Observations *in vitro* de la variabilité et de la dynamique du seuil. A. Le seuil peut être variable. Réponse d'un noeud de Ranvier du nerf sciatique de la grenouille à une répétition d'un crêneau de courant d'intensité seuil. (Extrait de Verveen and Derksen (1968)) B. Le seuil peut être dynamique. Le voltage seuil  $V_{Th}$  augmente avec la durée  $t$  d'une stimulation de courant, dont l'intensité est voisine du seuil ( $\tau$  est la constante de temps membranaire). Courbe tracée à partir de simulations numériques des équations HH d'initiation. (Extrait de Noble and Stein (1966)) C. Le seuil peut présenter des variations spatiales. Schéma d'un motoneurone (à gauche) : IS correspond au segment initial de l'axone, SD correspond à la zone soma-dendrite. Il existe une transition brutale des valeurs du seuil entre l'axone et le soma (à droite). (Extrait de Coombs et al. (1957))

Nous allons maintenant énumérer les expériences classiques sur le seuil d'excitabilité réalisées *in vitro*. En parallèle, nous donnerons la référence des travaux théoriques ou numériques s'y rapportant, lorsqu'elles existent. Il est intéressant de faire remarquer que tous ces travaux ont fait appel au modèle HH pour rendre compte de ces expériences.

- Une des expériences les plus anciennes sur le phénomène d'excitabilité, réalisée par Nernst (1908), a permis d'observer que pour une augmentation linéaire du paramètre d'entrée, le seuil d'excitabilité augmente lorsque la pente d'accroissement diminue. Il a été ensuite évoqué par Hodgkin and Huxley (1952) que cette augmentation du seuil était due à l'inactivation du courant sodium ou à l'activation du courant potassium. Noble and Stein (1966) ont donné une description plus quantitative de ce phénomène en incluant ces processus ioniques dans la détermination du seuil.
- Lapicque (1907) a observé dans le nerf sciatique de la grenouille que lorsqu'un courant sinusoïdal est injecté, le voltage au seuil augmente comme la racine carrée de la fréquence du stimulus.
- Les expériences réalisées par Hodgkin and Rushton (1946), dans l'axone du homard, ont mis en évidence que le voltage au seuil est plus grand lorsque le stimulus est une impulsion de courant que lorsqu'il est un crêneau de courant.

Ils suggèrent que la charge serait un paramètre plus pertinent que le voltage pour déterminer le seuil d'excitabilité pour des impulsions de courant. Cette hypothèse a été confirmée par Noble and Stein (1966) en étudiant une version uni-dimensionnelle du modèle HH.

- Dans leur article fondateur, Hodgkin and Huxley (1952) ont étudié la période réfractaire après la génération de PA. Ils interprètent ce phénomène comme une augmentation du seuil due à la fois à l'inactivation du Na et à l'activation du K. Cet aspect particulier a été développé plus quantitativement par Fitzhugh (1960).
- Dans l'axone du calamar, Guttman (1962, 1966) ont montré que le seuil d'excitabilité pour des créniaux de courant augmente avec la température. Par ailleurs, Sjodin and Mullins (1958) ont montré que le seuil pour des impulsions de courant diminue avec la température. Fitzhugh (1966) a expliqué ces phénomènes en introduisant explicitement des facteurs de température dans les équations HH, suggérés par l'article original du modèle HH et par des expériences ultérieures.
- Il a été observé par Cole et al. (1970) que l'axone du calamar ne présente pas de phénomène de seuil lorsque la température est comprise entre 15° et 38°C, dans le cas simple où un stimulus de courant est appliqué uniformément sur toute la surface membranaire. Plus précisément, la réponse de la membrane est alors une fonction continue de l'amplitude du stimulus. Ils ont confirmé ces observations avec des simulations numériques des équations HH pour l'initiation. Cela peut être expliqué par le fait que l'ensemble des constantes de temps des processus ioniques ( $\tau_m$ ,  $\tau_h$ ,  $\tau_n$ ) diminuent avec la température. Au-delà d'une certaine température, l'inactivation du courant Na et l'activation du courant K sont suffisamment rapides pour empêcher l'activation du courant Na de générer un PA.
- Coombs et al. (1957) et Frank and Fuortes (1957) ont mis en évidence dans les motoneurones que le seuil au segment initial de l'axone (SIA) est plus bas que dans la zone soma-dendrite. Cet aspect a été reproduit dans des simulations numériques des équations HH par Dodge and Cooley (1973); Moore et al. (1983), en intégrant la géométrie des motoneurones. Néanmoins, les deux études font deux hypothèses différentes relativement aux propriétés biophysiques : Dodge and Cooley (1973) supposent une valeur de  $\bar{g}_{Na}$  plus élevée et des cinétiques ioniques différentes au SIA, alors que Moore et al. (1983) supposent une homogénéité des paramètres biophysiques dans la zone soma-SIA. Pour ces derniers, la géométrie du SIA suffit : la surface beaucoup plus réduite du SIA et l'isolation électrique de cette zone par rapport au soma induisent des propriétés passives au SIA différentes de celles du soma, donnant plus de poids au courant Na.
- Moore and Westerfield (1983) ont montré dans l'axone du calamar que : le seuil varie le long de l'axone ; le seuil dépend de la géométrie de l'axone ; le seuil dépend des propriétés électriques passives ; le seuil dépend de la densité de canaux ioniques. Ils ont confirmé leurs observations par des simulations

- numériques des équations HH de propagation.
- Il a été observé dès les années trente qu'un même stimulus seuil peut donner lieu ou non à la génération d'un PA (Blair and Erlanger, 1932; Monnier and Jasper, 1932; Pecher, 1937). Autrement dit, le seuil d'excitabilité peut présenter une variabilité intrinsèque. Les expériences de Verveen and Derksen (1968); Poussart (1969) ont confirmé que ces fluctuations intrinsèques étaient liées au mécanisme de génération de PA, en les mettant en évidence au repos. Ce phénomène a été expliqué théoriquement par Lecar and Nossal (1971b,a). Pour cela, ils ont considéré une version bi-dimensionnelle du modèle HH dans (V,m), en ajoutant l'hypothèse que la dynamique de m est stochastique. Ils ont ensuite utilisé des méthodes classiques du calcul stochastique pour rendre compte des fluctuations de la condition de décharge.

### Approche dynamique des systèmes uni-dimensionnels

Ce sont les analyses mathématiques de Fitzhugh (1960); Noble and Stein (1966) qui ont montré que le modèle HH rend compte du phénomène de seuil d'excitabilité. Leurs résultats font partie maintenant de la biophysique classique de l'excitabilité et leurs travaux ont été synthétisés par Jack et al. (1975); Koch (1999). Nous n'aborderons pas en détail leurs analyses mais nous pouvons résumer dans un cas simple ces principes.

Pour cela, nous réduirons les variables libres du modèle (V, m, h, n) à une seule, en utilisant des comparaisons sur les ordres de grandeurs des différentes constantes de temps : m varie instantanément par rapport à V ( $\tau_m \ll \tau = \frac{C}{g_L}$ ); h et n varient infiniment lentement par rapport à V ( $\tau_h, \tau_n \gg \tau$ ). Cela simplifie les expressions des variables ioniques, en négligeant leurs variations temporelles :  $m = m_\infty(V)$ ,  $h = 1$  et  $n = 0$ . L'équation d'évolution de V devient alors uni-dimensionnelle :

$$C \frac{dV}{dt} = \bar{g}_{Na} m_\infty(V)^3 (E_{Na} - V) + g_L (E_L - V) + I = F(V) + I \quad (1.10)$$

Nous avons représenté la fonction F dans la Figure 1.9, qui correspond à l'ensemble des états possibles du système dans le plan de phase (V, dV/dt) pour I=0. Nous pouvons constater que la courbure de F est dominée par le terme de fuite linéaire décroissant pour V voisin de  $E_L$ , et par le terme sodium croissant pour V suffisamment grand par rapport à  $E_L$  et suffisamment petit par rapport à  $E_{Na}$ . La croissance de ce dernier terme est en fait liée à celle de la courbe  $m_\infty(V)$  représentée à la Figure 1.5. F est donc croissante au voisinage du voltage au centre de cette courbe, que nous noterons  $V_{1/2}$  (non représenté sur la Figure 1.9). Cela implique que F possède un minimum global entre  $E_L$  et  $V_{1/2}$  et donc coupe l'axe horizontal en deux points si I est suffisamment bas. En l'occurrence, nous pouvons constater sur la Figure 1.9 que cela est bien le cas pour  $I = 0$ . Nous notons  $V_1$  et  $V_2$  ( $V_1 < V_2$ ) les abscisses associés à ces points.

L'étude de l'évolution du système dans le plan (V, dV/dt) nous indique que : ses voltages sont des points d'équilibre du système ( $\frac{dV}{dt} = 0$  en ces deux points);  $V_1$  et  $V_2$

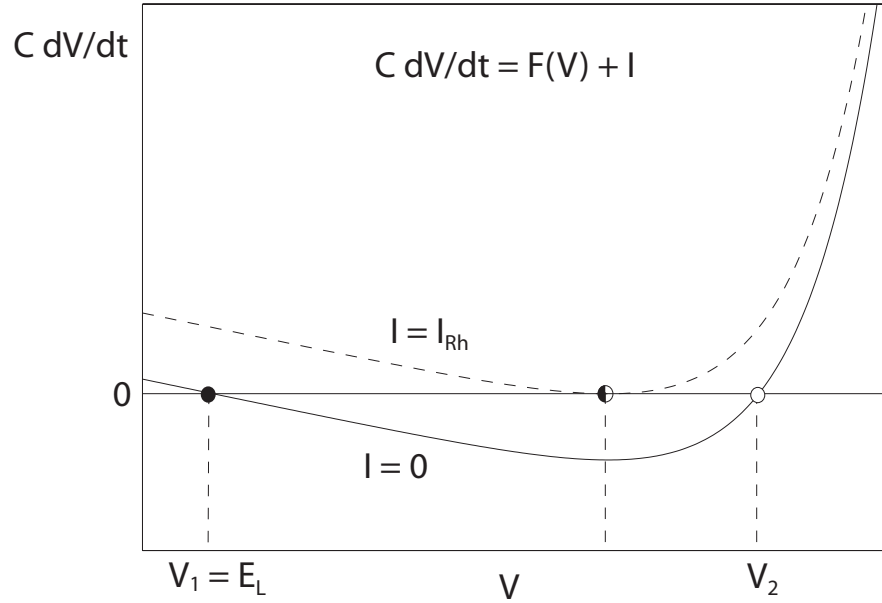


FIGURE 1.9 – Approche dynamique des systèmes du phénomène de seuil. L'équation membranaire simplifiée du modèle HH (Eq. 1.10) a été représentée dans le plan de phase, pour deux valeurs du courant constant d'entrée : intensité nulle et intensité seuil (ou rhéobase). De ce point de vue, le seuil est représenté par un point d'équilibre instable (rond blanc) ou par un point de bifurcation (rond mixte noir-blanc). Le rond noir représente un point d'équilibre stable.

sont des équilibres respectivement stable et instable ( $\frac{d^2V}{dt^2}(V_1) < 0$  et  $\frac{d^2V}{dt^2}(V_2) > 0$ ). Du point de vue physiologique,  $V_1$  est le potentiel de repos et  $V_2$  est le potentiel au seuil de charge. Il est important de préciser que ce seuil correspond exactement à une stimulation particulière où : la condition initiale du voltage est contrôlée, puis la réponse de la membrane est mesurée en régime spontané ( $I = 0$ ). Une stimulation plus réaliste est celle où une impulsion de courant est injectée. Dans ce cas, il est possible de se ramener de façon approximative à la situation où  $I = 0$ . Pour cela, il suffit de considérer la phase débutant à l'instant où l'impulsion est juste terminée. Cela revient à faire l'approximation que la dynamique de  $I$  est instantanée par rapport à celle de  $V$ . De façon générale, cette définition du voltage seuil est appropriée pour les stimuli très rapides, comme l'indique Koch et al. (1995).

Envisageons maintenant la situation où la variable  $I$  est un paramètre non-nul. On conçoit bien alors que lorsque  $I$  augmente, la courbe représentant  $F(V) + I$  est translatée vers le haut. De plus,  $F$  présentant un minimum, il existe une valeur de  $I$  telle que  $F(V) + I$  est tangente à l'axe horizontal. Notons  $I_{Rh}$  cette valeur (pour courant rhéobasique). De façon analogue à la situation précédente, l'étude du système dans  $(V, dV/dt)$  nous indique que : tous les états du système sont instables



pour  $I > I_{Rh}$  ( $\frac{dV}{dt} > 0$  pour tous les  $V$ ) ; on est ramené à la situation dynamique précédente pour  $I < I_{Rh}$ . On dit que  $I$  est un paramètre de bifurcation et  $I_{Rh}$  est le point de bifurcation. Du point de vue physiologique,  $I_{Rh}$  est le seuil d'intensité du courant. Cela correspond exactement à la situation où une rampe de courant de pente très faible est injectée. Une stimulation plus usuelle est celle où un créneau de courant est injecté. Néanmoins, cette situation est une approximation de l'approche avec bifurcation car  $I$  est brusquement augmenté au début de la stimulation. Le voltage au seuil sera déterminé par le minimum de  $F(V)$ , la courbe  $F(V) + I$  étant translatée uniquement verticalement. Ce voltage est donc donné simplement par l'équation :  $F'(V) = 0$ . De façon générale, cette définition du seuil est appropriée pour les stimuli très lents (Koch et al., 1995).

# Excitabilité neuronale fluctuante : comportements *in vivo*

---

Nous avons présenté au chapitre précédent les hypothèses fondamentales et la formulation mathématique du modèle HH. Nous avons vu que ce modèle s'est révélé très fructueux pour expliquer l'ensemble des comportements du seuil d'excitabilité observés *in vitro*. Nous allons maintenant essayer de présenter les connaissances actuelles sur l'excitabilité des neurones qui permettent de bien comprendre les problématiques de nos études. Tout d'abord, nous aborderons le problème de l'adéquation du modèle HH à l'excitabilité des neurones centraux. Il est tout à fait naturel de douter de la pertinence de ce modèle pour des neurones, étant donné les différences considérables entre l'axone du calamar et les neurones corticaux des mammifères par exemple. Nous traiterons ensuite des observations et de la modélisation du courant d'entrée des neurones corticaux. Nous verrons que contrairement à l'axone du calamar, les neurones corticaux sont soumis en permanence à un courant d'intensité et de variabilité très élevées. Ceci justifie par ailleurs le titre de ce chapitre. Enfin, nous montrerons que ces conditions naturelles particulières ont renouvelé l'intérêt pour le phénomène de seuil d'excitabilité. En effet, il ressort de l'ensemble des études expérimentales sur le seuil *in vivo* que le neurone traite les signaux de façon très dynamique, contrairement à ce que suggéraient les expériences *in vitro*.

## 2.1 Neurone numérique

### Diversité et variabilité des courants ioniques

Contrairement à l'axone du calamar, il existe une grande diversité de courants ioniques dans les neurones centraux (Johnston and Wu, 1995). Cela se traduit par une grande diversité dans les motifs de décharge<sup>1</sup> (Llinás, 1988; Connors and Gutnick, 1990; McCormick, 2004; Izhikevich, 2007) et dans les formes des PA (Bean, 2007).

Afin de se rendre compte de la diversité des canaux ioniques, nous pouvons citer uniquement l'ensemble des courants sodium connus :  $I_{Na,T}$  le courant transitoire correspondant à celui du modèle HH (Huguenard et al., 1988; Martina and Jonas, 1997; Colbert and Pan, 2002; Baranauskas and Martina, 2006; Mercer et al., 2007; Kole et al., 2008; Royeck et al., 2008; Hu et al., 2009; Kuba and Ohmori, 2009;

---

1. Série des instants d'impulsion généralement en réponse à un créneau de courant.

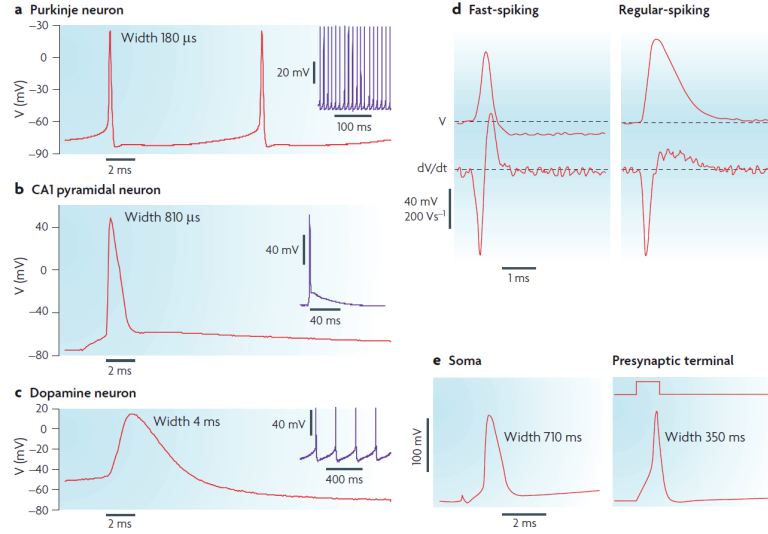


FIGURE 2.1 – Diversité dans la forme des potentiels d'action de différents neurones centraux. (Extrait de Bean (2007))

Scott et al., 2010);  $I_{Na,S}$  le courant lent s'inactivant lentement (Fleidervish et al., 1996; Colbert et al., 1997; Jung et al., 1997; Mickus et al., 1999; Ellerkmann et al., 2001; Vilin and Ruben, 2001; Do and Bean, 2003; Kim and Rieke, 2003; Maurice et al., 2004);  $I_{Na,P}$  le courant persistant ne s'inactivant pas ou très lentement (Taylor, 1993; Crill, 1996; Magistretti and Alonso, 1999);  $I_{Na,R}$  le courant résurgant s'activant juste après une décharge et accélérant l'inactivation rapide du courant Na responsable de la décharge (Bean, 2007); enfin  $I_{Na,L}$  le courant ne dépendant pas du voltage (Lu et al., 2007). Par ailleurs, les nombreuses études expérimentales portant sur chacun de ces courants Na suggèrent qu'il existe une grande variabilité dans les caractéristiques d'un même courant, dépendant essentiellement du site d'enregistrement au sein d'un neurone, du type cellulaire et de l'aire considérée. Cette grande diversité et variabilité n'affecte pas pour autant la pertinence du modèle HH. L'hypothèse de superposition linéaire des courants ioniques du modèle HH n'est pas remise en cause ( $I_M - C \frac{dV}{dt} = \sum I_{ion}$ ). L'hypothèse d'indépendance entre les variables ioniques n'est pas non plus remise en cause :

$$I_{ion} = \bar{g}_{ion} m^\alpha h^\beta s^\gamma (E_{ion} - V)$$

avec  $m$ ,  $h$  et  $s$  les variables respectivement d'activation, d'inactivation rapide et d'inactivation lente et  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  les nombres de portes respectives. Nous pouvons illustrer avec le courant Na comment ce formalisme peut s'appliquer : pour  $I_{Na,T}$  seul  $\gamma = 0$ ; pour  $I_{Na,S}$  tous les exposants sont non-nuls; pour  $I_{Na,P}$  à la fois  $\beta = 0$  et  $\gamma = 0$ ; pour  $I_{Na,L}$  tous les exposants sont nuls. De plus, pour la majorité des courants, des cinétiques du premier ordre sont considérées pour la dynamique des variables ioniques.

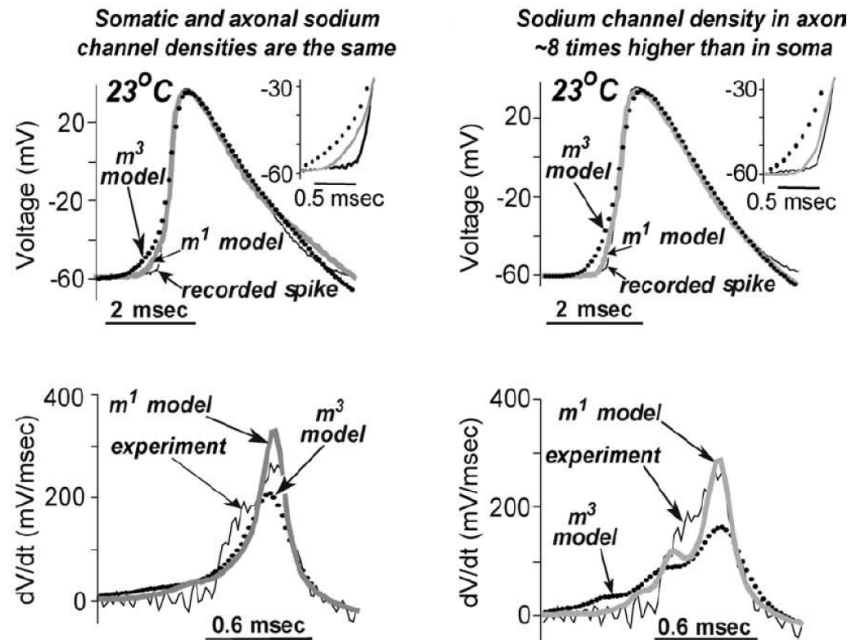


FIGURE 2.2 – Modèle cinétique de Baranauskas and Martina (2006). Décours temporels de  $V$  (en haut) et de  $dV/dt$  (en bas) donnés par les enregistrements dans des neurones centraux (“experiment”), par le modèle de courant Na de Baranauskas and Martina (2006) (“ $m^1$  model”) et par un modèle HH classique de neurone central (“ $m^3$  model”). Les simulations numériques ont été réalisées dans des modèles à deux compartiments, représentant le soma et l’axone. La densité en canaux Na à l’axone est soit identique à celle au soma (à gauche), soit huit fois plus grande (à droite). Nous pouvons constater que le modèle proposé donne une montée plus rapide des PA que le modèle classique, notamment dans le modèle à densité inhomogène, se rapprochant ainsi des traces expérimentales. (Extrait de Baranauskas and Martina (2006))

Certains courants ioniques ne vérifient pas la loi d’Ohm ou les variables ioniques de certains courants ne suivent pas une cinétique du premier ordre et peuvent alors dépendre des concentrations ioniques ou être indépendantes du voltage. Cependant, ces propriétés exotiques sont considérées comme des sophistications du modèle HH, dans la mesure où elles peuvent être incluses dans le cadre général de ce modèle (Rinzel, 1990; Meunier and Segev, 2002).

Nos études portant sur l’initiation des PA, il est intéressant de mentionner spécifiquement l’étude de Baranauskas and Martina (2006) sur  $I_{Na,T}$ . Ils ont effectué des mesures en voltage imposé similaires à celles de Hodgkin et Huxley dans différents types de neurones centraux : pyramidaux du cortex préfrontal, granules du dentate gyrus et pyramidaux de l’aire CA1 de l’hippocampe. Nous pouvons faire remarquer

qu'ils n'ont pas utilisé la loi d'Ohm pour modéliser les courants Na, mais l'équation de Goldman-Hodgkin-Katz (généralisation de la loi d'Ohm, prédisant une relation non-linéaire entre courant et voltage). Néanmoins, le choix de cette équation pour l'ajustement n'est pas justifiée dans l'étude. Par ailleurs, d'après leurs mesures, ils ont conclu que l'activation du courant sodium n'est pas correctement modélisée par la cinétique du modèle HH. Approximativement, leur modèle cinétique correspond à une seule porte d'activation ( $m$  au lieu de  $m^3$ ), décrite par une cinétique du premier ordre. En somme, le processus d'activation est beaucoup plus rapide (3 à 7 fois plus rapide) que celui prédit par les modèles HH adaptés aux neurones corticaux (Traub and Miles, 1991; Mainen et al., 1995). Les auteurs montrent que cela a un effet significatif sur la forme des PA, notamment la phase de montée est plus abrupte, se rapprochant ainsi des traces expérimentales (voir Fig. 2.2). Les auteurs suggèrent que cela pourrait être liée à la plus grande rapidité de l'activation du courant Na dans le modèle proposé. Plus précisément, ils ont simulé le modèle proposé et le modèle HH pour une géométrie à deux compartiments, supposés représentés le soma et l'axone. Les simulations ont été réalisées soit avec des densités en canaux Na identiques dans les deux compartiments, soit avec une densité dans le compartiment axonal huit fois supérieure au compartiment somatique. Ce dernier cas est plus réaliste comme nous le verrons par la suite. De façon intéressante, l'adéquation entre les traces expérimentales et simulées est encore meilleure dans le cas où l'inhomogénéité en densité est prise en compte. Ainsi, l'étude de Baranauskas and Martina (2006) a montré que le modèle HH du courant Na n'est pas précis au moins pour certains neurones centraux. Néanmoins, leur étude ne remet pas en question les fondements de ce modèle.

Nous pouvons donc déjà constater, simplement à partir du courant Na, que les propriétés électrophysiologiques des neurones centraux sont beaucoup plus complexes que celles de l'axone du calamar. Néanmoins, si certaines approximations du modèle HH se sont révélées invalides pour les neurones, dans l'ensemble les équations HH s'appliquent bien pour décrire la dynamique du potentiel neuronal en fonction des propriétés biophysiques. Cependant, l'analyse mathématique de ces équations est rendue plus difficile.

## Types d'excitabilité

Afin de saisir plus précisément la pertinence du modèle HH pour décrire les comportements électrophysiologiques neuronaux, intéressons-nous plus particulièrement à l'initiation des PA. Il est avéré, depuis les travaux expérimentaux de Hodgkin (1948) dans l'axone du crabe enragé (*carcinus maenas*), que les types d'excitabilité peuvent être simplement classés selon trois catégories. Ces différentes catégories, représentées Figure 2.3, sont :

- “type 1” comprenant tous les neurones pouvant décharger à une fréquence arbitrairement faible en réponse à un créneau de courant. Ce type est caractérisé par une relation fréquence de décharge - intensité du courant injecté (courbe  $f - I$ ) continue.

- “type 2” comprenant tous les neurones ne pouvant pas décharger à une fréquence faible en réponse à un créneau de courant. Il existe donc une intensité de ce courant au-delà de laquelle la cellule décharge intensément et sinon ne décharge pas. Ce type est caractérisé par une courbe  $f - I$  discontinue. De plus, la fréquence de décharge est relativement indépendante de l’intensité du courant.
- “type 3” comprenant tous les neurones n’émettant au plus qu’un PA en réponse à un créneau de courant d’amplitude raisonnable et ne pouvant décharger de façon répétitive que pour des amplitudes extrêmement élevées. Ce type ne peut donc pas être caractérisé par une courbe  $f - I$ . La représentation dans un plan de phase, mettant en évidence la dynamique du système, est plus adaptée pour le caractériser (Izhikevich, 2007; Prescott et al., 2008).

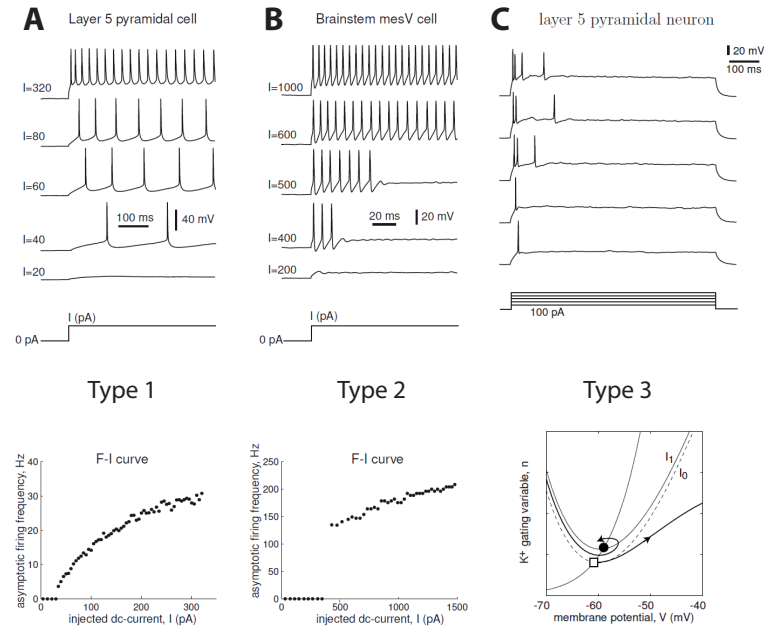


FIGURE 2.3 – Les trois types d’excitabilité neuronales connus. Type d’excitabilité 1 (A), 2 (B) et 3 (C). Les deux premiers types sont bien caractérisés par la courbe fréquence - courant. Le troisième type ne peut être caractérisé que par des approches dynamique des systèmes. (Adapté de Izhikevich (2007))

Nous pouvons faire remarquer que le modèle HH classique est de type 2. Par ailleurs, il est intéressant de noter que la classe d’excitabilité n’est pas nécessairement déterminée par la nature des courants ioniques présents. Par exemple, le modèle type HH de Wang and Buzsáki (1996) pour les interneurones à décharge rapide de l’hippocampe est de type 1 alors qu’il est décrit exactement par les mêmes équations. Ainsi, cela suggère que le réglage des paramètres des taux de transition ou des conductances maximales peut changer le type d’excitabilité d’un neurone.

(Prescott et al., 2008) ont confirmé cette hypothèse en montrant que les trois classes d'excitabilité peuvent être obtenues pour un même modèle de type HH. Ce modèle minimal contient : un courant Na avec activation instantanée et sans inactivation ; un courant plus lent, de la forme du courant K du modèle HH. Ils ont montré que les différentes classes d'excitabilité peuvent être ainsi obtenues par un simple réglage approprié des paramètres. Ils donnent de plus les contraintes sur les paramètres pour obtenir tel ou tel type d'excitabilité. Les auteurs expliquent que c'est la compétition non-linéaire entre courant rapide et courant lent au niveau du seuil, qui permet de reproduire ces différents types d'excitabilité. Une étude similaire a été réalisée pour un modèle mathématique de neurone bi-dimensionnel par Touboul and Brette (2008). Mais seuls les deux premiers types d'excitabilité ont été étudiés. De façon intéressante, les auteurs montrent que ces deux types peuvent être prédits en comparant simplement le ratio des constantes de temps au ratio des conductances maximales.

Ainsi, l'ensemble de ces études soulignent que les équations HH sont relativement plastiques, dans la mesure où le seul réglage des paramètres permet d'obtenir des comportements dynamiques très différents. Cela confirme le caractère général de ces équations et justifie leur utilisation dans le cadre de la dynamique neuronale. Néanmoins, cela laisse aussi à penser que le nombre de paramètres de ces équations est suffisamment grand pour obtenir l'ensemble des comportements observables. A contrario, les dernières études théoriques mentionnées suggèrent qu'un nombre beaucoup plus réduit de paramètres suffit pour prédire les différents types d'excitabilité.

## Modélisation multi-compartimentale de l'initiation des potentiels d'action

Nous avons vu que les équations HH peuvent être adaptées pour prendre en compte la diversité et la variabilité des courants ioniques. Nous pouvons maintenant évoquer une autre caractéristique propre aux neurones : la complexité de leur morphologie, connue depuis les travaux pionniers de Santiago Ramon y Cajal (Swanson and Swanson, 1995). Du point de vue géométrique, un neurone peut être grossièrement décrit comme une sphère (le soma) se prolongeant en des ramifications aux branches très fines (les dendrites) et une tige très longue et très fine (l'axone) (voir Fig. 2.4). Les techniques d'observations microscopiques plus sophistiquées ont permis de décrire avec détail chaque élément de la morphologie. Pour l'axone en particulier, il a été observé qu'il peut être décomposé en plusieurs segments (voir Fig. 2.4) :

- Le cône d'émergence ("hillock") fait la jonction avec le soma et est caractérisé par une forme conique. Pour les neurones centraux, sa longueur est de l'ordre de  $10\ \mu\text{m}$  et son diamètre diminue en ordre de grandeur de 5 à  $1\ \mu\text{m}$  d'une extrémité à l'autre, soit une surface de l'ordre de  $100\ \mu\text{m}^2$  (à comparer avec celle du soma, de l'ordre de  $1000\ \mu\text{m}^2$  et celle totale du neurone, de l'ordre de  $10\ 000\ \mu\text{m}^2$ ).
- Le segment initial (SIA) suit le cône d'émergence. Il est appelé aussi zone gâchette car c'est le site d'initiation des PA pour la plupart des neurones cen-

traux (Kress and Mennerick, 2009), à l'exception de certaines cellules comme celles de Purkinje du cervelet (Clark et al., 2005). Pour les neurones sensoriels au contraire (qui sont des neurones périphériques), comme les cellules ganglionnaires de la cochlée ou de la rétine, les PA ne sont pas nécessairement initiés au SIA (Hossain et al., 2005; Fried et al., 2009). Pour les neurones corticaux, sa longueur est de l'ordre de  $50\ \mu\text{m}$  et son diamètre de l'ordre de  $1\ \mu\text{m}$ , soit une surface de l'ordre de  $150\ \mu\text{m}^2$ .

- Le segment myélinisé suit le SIA et est le lieu de la propagation des PA. La myéline permet d'augmenter la vitesse de conduction en isolant électriquement l'axone (cf. Eq. 1.9). Sa longueur peut varier grandement d'une cellule à l'autre, mais est de l'ordre de  $1000\ \mu\text{m}$  pour les neurones corticaux (Debanne, 2004). Son diamètre est de l'ordre de  $1\ \mu\text{m}$  (à comparer avec celui de l'axone du calamar, de l'ordre de  $1\ \text{mm}$ ).
- Ce dernier segment est entrecoupé de portions très courtes (longueur de l'ordre de  $1\ \mu\text{m}$ ) et non-myélinisées, appelées noeuds de Ranvier. Ce sont les sites de régénération des PA, dont l'amplitude a été atténuée au cours de la propagation. La distance entre deux noeuds est de l'ordre de  $100\ \mu\text{m}$ .

Nous avons vu qu'il était connu depuis les travaux de Coombs et al. (1957); Frank and Fuortes (1957) que les PA peuvent être initiés au SIA. Comme nous l'avons évoqué, cela avait été bien expliqué par les équations HH intégrant la morphologie des motoneurones (Dodge and Cooley, 1973; Moore et al., 1983). Néanmoins, des hypothèses biophysiques contradictoires avaient été faites dans les deux modèles proposés. Mainen et al. (1995) ont proposé de revoir ces hypothèses à la lumière des données accumulées sur l'anatomie, la physiologie et la structure moléculaire des cellules pyramidales du néocortex. Pour cela, ils ont constitué un modèle très détaillé de l'excitabilité neuronale. Leur modélisation consistait à : utiliser en partie une morphologie de neurone réel reconstruite par ordinateur ; à décomposer la surface en de très nombreux cylindres isopotentiels afin de discrétiser les équations de propagation (cela est appelé modélisation multi-compartimentale) ; à associer à chaque cylindre un "circuit électrique" virtuel décrit par des équations très similaires aux équations HH (voir Fig. 1.4) ; à joindre "électriquement" ces cylindres par des résistances axiales ; à intégrer des détails biophysiques très subtils comme les variations spatiales des caractéristiques électrophysiologiques ou comme les épines dendritiques (excroissance de quelques  $\mu\text{m}^2$  à la surface des dendrites). La simulation numérique d'un modèle aussi complexe a été rendue plus facilement réalisable grâce au développement de simulateurs d'équations aux dérivées partielles non-linéaires, spécifiques à la biophysique des membranes excitables. Parmi ces simulateurs, NEURON est celui qui est le plus couramment utilisé (Carnevale and Hines, 2009). Il est facile à concevoir que la complexité mathématique d'un tel modèle est considérablement augmentée par rapport aux équations HH originales. Néanmoins, ce modèle est encore qualifié de modèle de type HH. Au vu des nombreuses équations présentes, de la méthode empirique de réglage des paramètres et de la difficulté à étudier analytiquement ces équations, nous pouvons affirmer que c'est un modèle numérique plutôt



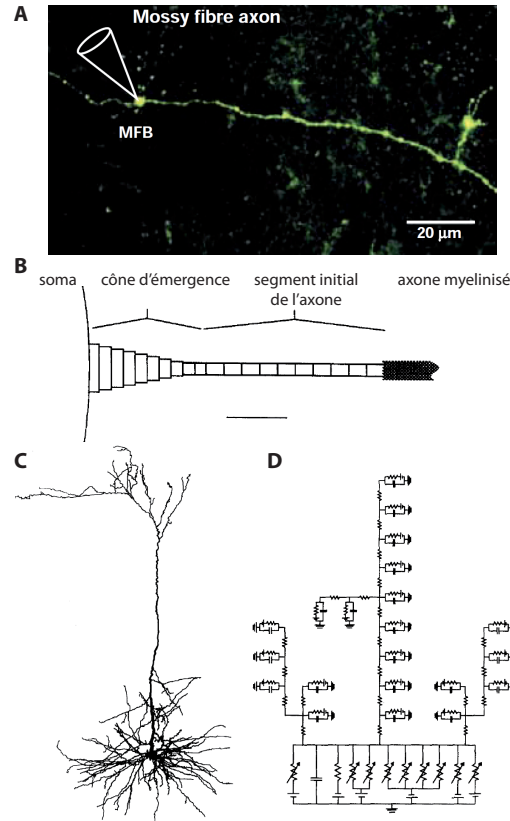


FIGURE 2.4 – Modélisation multi-compartimentale de l’initiation des potentiels d’action. A. Photographie au microscope de l’axone d’une fibre moussue. (Extrait de Debanne (2004)) B. Schéma anatomique de l’axone et discrétisation en compartiments iso-potentiels. C. Re-construction informatique de la morphologie d’un neurone réel. (Extrait de Mainen et al. (1995)) D. Représentation du circuit électrique équivalent aux propriétés d’un neurone cortical. (Extrait de Koch et al. (1995))

que théorique.

L’étude de Mainen et al. (1995) a permis d’aborder la question du mécanisme biophysique de l’initiation des PA. Au lieu de trancher entre les deux hypothèses contradictoires, elle a apporté une nouvelle hypothèse : seule la valeur beaucoup plus élevée de  $\bar{g}_{Na}$  au SIA, fait de ce segment le site d’initiation. De façon intéressante, ils ont aussi noté qu’au soma, la vitesse de montée et l’amplitude des PA sont beaucoup plus petites lorsque l’axone est retiré du modèle (le cône d’émergence n’est pas retiré).

De façon étonnante, leur modèle des taux de transition, très similaires à ceux du modèle HH, a été une source incroyable d’inspiration pour de nombreuses études numériques de l’activité des neurones, au détriment d’autres modèles de cellules corticales comme celui de Traub and Miles (1991). La formulation mathématique explicite des taux, les nombreuses références à des études expérimentales et la pré-

cision générale de leur étude ont certainement été à l'origine de la diffusion de ce modèle. Par ailleurs, leur étude a été la toile de fond à plusieurs débats relatifs à l'initiation des PA. Colbert and Pan (2002) ont soutenu l'hypothèse que l'initiation au SIA est uniquement due à un seuil d'activation plus bas au SIA qu'au soma. Ils ont confirmé cette hypothèse par des enregistrements dans les neurones pyramidaux du néocortex et des simulations numériques similaires à celles de Mainen et al. (1995). Plus récemment, Kole et al. (2008) ont confirmé l'hypothèse de Mainen et al. (1995) par des expériences dans les neurones pyramidaux du cortex somatosensoriel et des simulations numériques similaires. Ils ont de plus constaté que  $\bar{g}_{Na}$  au SIA était 50 fois supérieure à celle dans les dendrites proximales (les plus proches du soma). Enfin, les expériences et les simulations numériques de Shu et al. (2007a); Yu et al. (2008); Hu et al. (2009) ont confirmé et précisé l'hypothèse de Mainen et al. (1995), pour les neurones pyramidaux du cortex préfrontal et somatosensoriel en condition *in vitro* et *in vivo*.

En résumé, nous pouvons affirmer que si Mainen et al. (1995) n'ont pas remis en question les fondements du modèle HH, ils ont apporté un nouveau cadre pour l'étude de l'excitabilité neuronale. Dans ce cadre, l'activité membranaire électrique est décrite par un programme informatique simulant un grand nombre d'équations différentielles couplées, de forme très similaire à celles du modèle HH. Dans notre première étude, nous avons validé nos résultats analytiques sur des modèles de ce type. Il est intéressant de faire remarquer que nous avons observé en pratique des caractéristiques du seuil assez différentes entre les différents modèles testés.

## 2.2 Dynamique du signal d'entrée *in vivo*

Nous venons de voir que le modèle HH peut être généralisé et sophistiqué pour décrire l'excitabilité neuronale et en particulier des neurones corticaux des mammifères. En somme, les différences entre l'axone du calamar et les neurones centraux du point de vue des caractéristiques électrophysiologiques membranaires, ne diminuent pas la généralité du modèle HH. Nous allons maintenant présenter les connaissances sur la dynamique et la statistique des courants d'entrée neuronaux. Nous commencerons par résumer les expériences sur la reproductibilité des instants de décharge, qui ont mis en évidence l'importance de la caractérisation des conditions naturelles pour décrire le mécanisme d'émission d'impulsion. Nous présenterons ensuite les travaux sur les états de haute-conductance, donnant un modèle biophysique de la dynamique des courants d'entrée. Enfin, nous résumerons les travaux fondamentaux sur les corrélations temporelles fines dans les entrées, mettant en lumière l'importance des transitoires dans les signaux électriques neuronaux.

### Courant fluctuant : un signal optimal ?

Depuis les travaux de Segundo et al. (1963), dans les cellules ganglionnaires de l'aplysie, il est connu que l'instant d'émission d'une impulsion peut être déterminé par les instants d'activation synaptique. Ils ont réalisé une des premières expérien-

ces permettant d'aborder le problème de la conversion par les neurones d'un train d'activation synaptique en un train d'impulsions. Ce problème, appelé aussi codage neuronal, tourne autour du débat entre la plausibilité d'un codage fréquentiel ou temporel (Softky, 1995; Shadlen and Newsome, 1994, 1995; König et al., 1996; Rieke et al., 1999). Par la suite, Bryant and Segundo (1976) ont réalisé la première expérience, également dans les cellules ganglionnaires de l'aplysie, mettant en évidence un phénomène de reproductibilité des motifs de décharge. Plus précisément, leur protocole consistait à injecter exactement le même courant de façon répétée et à mesurer pour chaque essai les instants d'impulsion. Il peut être noté que le courant injecté était généré par un processus stochastique (bruit blanc Gaussien) mais qu'une seule réalisation du processus était utilisée pour la stimulation. On parle de bruit gelé ("frozen noise") dans la mesure où une seule réalisation d'un bruit est enregistrée. Ils ont alors observé que le motif des instants de décharge est reproduit d'un essai sur l'autre, avec des décalages temporels de l'ordre au plus de la milliseconde (voir Fig. 2.5).

Ces observations ont ensuite été confirmées par Mainen and Sejnowski (1995) dans les neurones du néocortex. De plus, ces derniers ont observé que lorsque le même protocole expérimental est réalisé avec un stimulus de type créneau de courant, le motif de décharge n'est pas reproduit d'un essai sur l'autre. Plus précisément, après une certaine durée d'injection du courant, les instants de décharge deviennent très différents entre les essais (voir Fig. 2.5 et Encadré pour une discussion théorique).

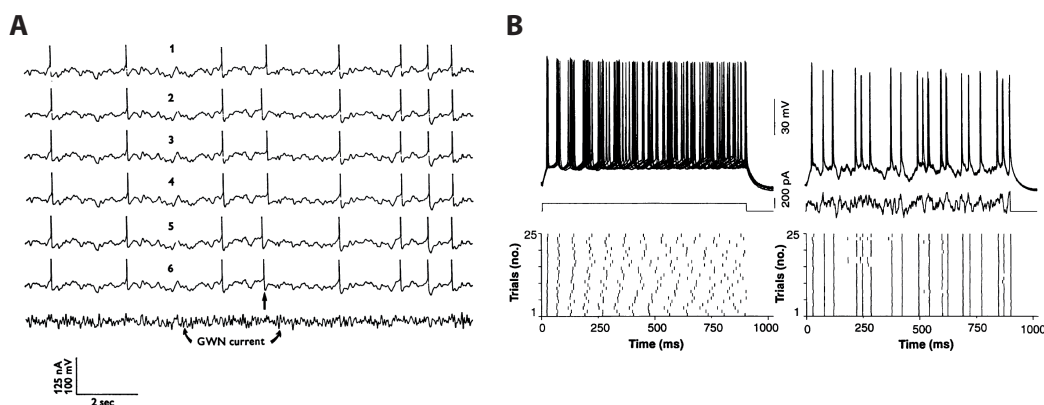


FIGURE 2.5 – Reproductibilité des instants de décharge. A. Un neurone peut décharger de façon très reproductible lorsqu'il est soumis à la répétition d'un courant à l'allure fluctuante. Ici, les réponses du potentiel pour six répétitions du courant ont été représentées. (Extrait de Bryant and Segundo (1976)) B. (A gauche) Un neurone ne décharge plus à priori de façon reproductible lorsqu'il est soumis à la répétition d'un même créneau de courant. (En bas) Instants des décharges pour les différentes répétitions du courant. (Extrait de Mainen et al. (1995))

Enfin, une expérience similaire réalisée par Nowak et al. (1997), dans différents types de neurones du cortex visuel, a confirmé ces expériences. A la différence des

expériences précédentes, le courant injecté provenait soit d'expériences *in vivo*, soit d'une génération artificielle. Par ailleurs, le spectre fréquentiel de ces stimuli a été façonné de façon à ce qu'il soit centré plutôt vers les basses ou les hautes fréquences. Cette expérience a montré que la reproductibilité de la décharge est d'autant plus significative que les fréquences du stimulus sont ajustées vers les hautes fréquences. A la différence de l'expérience de Mainen and Sejnowski (1995), cette expérience a mis en évidence qu'il existe un degré de reproductibilité et que ce degré dépend de la structure temporelle et fréquentielle du signal d'entrée.

En somme, ces expériences ont révélé de nouveaux aspects du mécanisme d'excitabilité, en mettant l'accent sur la notion d'impulsion plutôt que de PA. L'ensemble des expériences décrites considèrent en effet les PA comme des événements ponctuels dans le temps et non comme des trajectoires de  $V$ . De plus, l'expérience de Nowak et al. (1997) souligne l'importance de la dynamique de  $V$  pour la détermination des instants de décharge. Au contraire des travaux de Hodgkin et Huxley, qui insistaient sur l'aspect déterministe de la forme des PA, ces expériences ont mis en évidence l'aspect déterministe du mécanisme d'initiation des impulsions.

### Bruit de fond synaptique

Les expériences que nous venons de décrire montrent que le comportement déterministe des neurones est mis en évidence d'autant plus nettement que les variations du signal d'entrée sont rapides. Or, il s'avère que les courants d'entrée mesurés *in vivo* présentent de très fortes fluctuations. Ainsi, les expériences sur la reproductibilité des instants de décharge suggèrent que le mécanisme de déclenchement des impulsions ne peut être bien étudié que pour des stimulations similaires à celles observées *in vivo*. Il est donc nécessaire de décrire précisément les caractéristiques de ce courant d'entrée. Cela a été étudié pour les neurones corticaux par des approches à la fois expérimentales, numériques et théoriques. Nous allons maintenant aborder ces différentes approches en insistant sur les observations empiriques *in vivo*.

Plusieurs traits caractéristiques ont été observés *in vivo* pour les neurones du cortex, révélant un comportement très différent par rapport à celui observé au repos (Destexhe et al., 2003) :

- La conductance d'entrée est 3 à 5 fois supérieure à celle mesurée au repos et est de l'ordre de  $0.25 - 2 \cdot 10^{-2}$  mS. C'est pour cela que l'état des neurones corticaux *in vivo* est appelé état de haute-conductance.
- Le potentiel membranaire moyen est plus élevé qu'au repos, mais reste inférieur au seuil moyen :  $\langle V \rangle = -65 / -60$  mV, par rapport à  $-80 / -70$  mV au repos.
- La variabilité du potentiel membranaire est considérablement augmentée :  $\sigma_V = 2 - 6$  mV, soit 10 fois supérieure à la valeur au repos. Cela implique que le neurone décharge même en l'absence de stimulation électrique. La réponse du neurone *in vivo* n'est donc plus décrite par une loi "tout-ou-rien" : la courbe de réponse<sup>2</sup> n'a plus une allure de créneau mais de sigmoïde (voir Fig. 2.6). Nous avons abordé cet aspect dans notre première étude et avons montré qu'il

---

2. Probabilité d'émission d'un PA en fonction de l'amplitude du stimulus.

### Précision temporelle pour un courant constant

Comme le souligne Brette (2003), ces expériences sont étonnantes non pour les observations en créneau de courant mais pour celles en courant fluctuant. Plusieurs raisonnements simples permettent de voir que la non-reproductibilité est le phénomène le plus intuitif. Tout d'abord, nous pouvons considérer un modèle déterministe de neurone soumis à un courant constant pouvant présenter d'un essai sur l'autre de légères variations. Notons  $t_n$  la  $n^{\text{ième}}$  impulsion et  $T_n$  la durée entre la  $n^{\text{ième}}$  et la  $n+1^{\text{ième}}$  impulsion ( $t_{n+1} = t_n + T_n$ ). Nous pouvons alors exprimer  $t_n$  en fonction des ISI précédents :

$$t_n = t_0 + \sum_{k=0}^{n-1} T_k \quad (2.1)$$

Or, en courant constant, d'amplitude  $I$ , les  $T_k$  sont constants et déterminés uniquement par  $I$  ( $T_k = T = f(I)$ ), où  $f$  est une fonction déterminée par le modèle de neurone adopté), d'où :

$$t_n = t_0 + n f(I)$$

Le décalage entre les instants de la  $n^{\text{ième}}$  impulsion pour deux courants constants d'amplitude différant de  $\epsilon$ , est donné par :

$$t_n(I + \epsilon) - t_n(I) = n (f(I + \epsilon) - f(I))$$

Ainsi, même si  $\epsilon \ll 1$ , ce décalage croît linéairement avec la durée de la stimulation. Ce calcul simple montre que pour un modèle déterministe, la décharge en réponse à un créneau de courant n'est pas reproductible, même pour des amplitudes très proches. On pourrait alors argumenter que les expériences mentionnées mettent en lumière le caractère stochastique du comportement des neurones. La considération d'un modèle déterministe n'est donc pas pertinent. Considérons alors un modèle stochastique de neurone soumis plusieurs fois à un créneau de courant d'amplitude constante. Dans ce cas, les  $T_k$  sont des variables aléatoires dans l'expression 2.1. Si la moyenne de  $t_n$  entre différents essais est fixée :

$$\langle t_n \rangle = t_0 + n \langle T_k \rangle$$

Sa variance est donnée en fonction de celle des  $T_k$  par :

$$\text{var}(t_n) = n \text{var}(T_k)$$

Autrement dit, le décalage entre deux impulsions de même rang croît en  $\sqrt{n}$  : le motif de décharge n'est pas non plus reproductible. Au vu de ces deux cas typiques, il apparaît finalement contre-intuitif que les neurones soient capables de décharger de façon aussi précise pour un courant fluctuant, même si ce dernier est invariant d'un essai sur l'autre. Ce dernier point a été étudié théoriquement dans des modèles minimaux de neurones par Brette and Guigon (2003).

est possible de définir une loi “tout-ou-rien” lorsque la dynamique de l'entrée *in vivo* est reproduite *in vitro*.

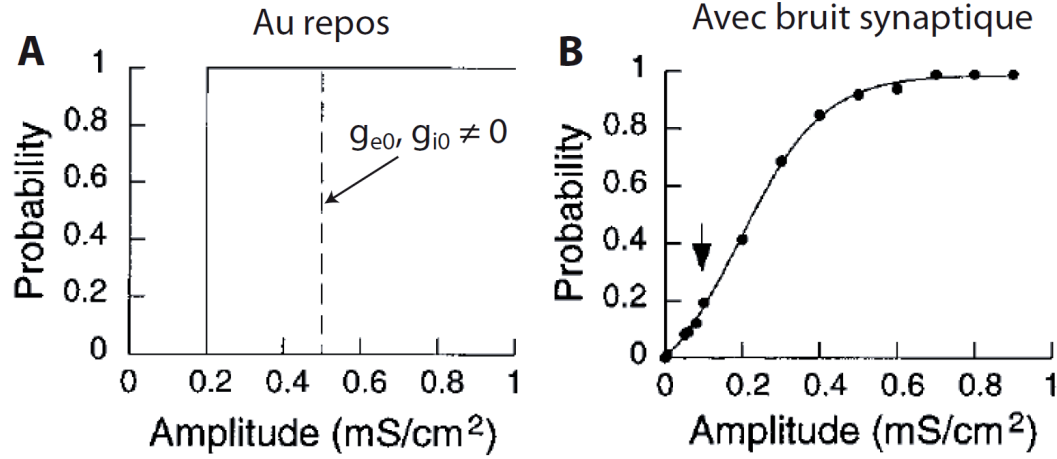


FIGURE 2.6 – Courbes de réponse “*in vitro*” et “*in vivo*”. La probabilité cumulative d’émettre une impulsion en fonction de l’amplitude de la stimulation a été mesurée pour un modèle biophysique de neurone cortical. A. Réponse tout ou rien du neurone - modèle avec et en l’absence de conductances synaptiques moyennes. B. Réponse permanente pour le neurone - modèle soumis à des conductances synaptiques fluctuantes. (Adapté de Hô and Destexhe (2000))

- La décharge est très irrégulière. Cela peut être quantifié par le coefficient de variation des intervalles inter-impulsions (ISI, pour “interspike interval”) :  $CV = \frac{\sigma_{ISI}}{\langle ISI \rangle}$  est voisin de 1, typique d’un processus de Poisson<sup>3</sup>.

Sur la base de ces observations et des mesures des conductances d’entrée, il a été proposé par Destexhe et al. (2001) un modèle de la dynamique de ces conductances pour les neurones corticaux en régime spontané (cf. 2.2 pour la définition des conductances synaptiques). Dans ce modèle, la dynamique de chaque conductance obéit à une équation de Langevin<sup>4</sup> :

$$\frac{dg_e}{dt} = \frac{g_{e0} - g_e}{\tau_e} + \sqrt{D_e} \xi_e(t) \quad (2.2)$$

pour l’excitation et similairement pour l’inhibition.  $g_{e0}$  est la conductance excitatrice moyenne,  $\tau_e$  est le temps caractéristique de l’excitation,  $D_e$  est la constante de diffusion du processus ( $D_e = \frac{2\sigma_e^2}{\tau_e}$ , où  $\sigma_e$  est l’écart-type de la distribution de  $g_e$ ) et

3. Nous pouvons donner un exemple de la vie quotidienne (Parisienne) du processus de Poisson. La série temporelle des instants où une goutte percute le toit d’une maison suit approximativement un processus de Poisson.

4. Originellement, cette équation a été introduite pour décrire le mouvement à la surface d’un liquide d’un grain de Pollen, dont la masse est suffisamment petite pour subir des chocs mécaniques dus à l’agitation thermique et suffisamment grande pour être soumis aux frottements visqueux avec le liquide.

$\xi_e$  est un bruit blanc Gaussien de moyenne nulle et de variance unitaire<sup>5</sup>.  $D_e$  est un paramètre important pour caractériser la dynamique de  $g_e$  dans la mesure où il est égal au ratio du terme de diffusion sur le terme de relaxation. Du point de vue statistique,  $g_e$  est un bruit coloré Gaussien ou processus d'Ornstein-Uhlenbeck, de densité spectrale de puissance en  $1/f^2$  ("bruit rouge") et de fréquence de coupure  $\propto 1/\tau_e$ .

### Conductances synaptiques

Le courant synaptique peut être décomposé en un courant dit excitateur, noté  $I_e$ , et un courant dit inhibiteur, noté  $I_i$ . Ces deux courants représentent les courants produits par l'ensemble des synapses respectivement excitatrices et inhibitrices. De même que pour les courants ioniques, la loi d'Ohm s'applique pour ces courants :

$$I_e = g_e(E_e - V)$$

où  $g_e$  et  $E_e$  sont appelés respectivement conductance et potentiel de réversion excitateurs. Une expression similaire s'applique pour  $I_i$ . De façon générale,  $E_e \approx 0$  mV et  $E_i \approx -75$  mV, impliquant qu'en moyenne, l'activation d'une synapse excitatrice produit une augmentation de  $V$ , et l'activation d'une synapse inhibitrice produit une diminution de  $V$  ( $E_i < \langle V \rangle < E_e$ ), d'où les qualificatifs d'excitateur et d'inhibiteur. L'expression des courants synaptiques par la loi d'Ohm peut être justifié par le fait que ces courants sont générés via des canaux ioniques, situés à la membrane des neurones.

Destexhe et al. (2001) ont montré que cette dynamique permettait de bien reproduire les observations expérimentales mentionnées précédemment. Ils ont effectué ces validations à partir de simulations numériques dans des modèles biophysiques de neurones corticaux et à partir d'enregistrements *in vitro* dans les neurones du cortex préfrontal, grâce à la technique du "dynamic clamp". Brièvement, cette technique consiste à injecter un courant dont la dynamique est donnée par la combinaison de celles de conductances synaptiques, produites artificiellement, et de celle du potentiel, enregistrée en temps réel (Destexhe and Bal, 2009). Le courant injecté est alors censé reproduire la dynamique naturelle du courant synaptique des neurones corticaux.

Nous pouvons mentionner quelques ordres de grandeur pour les paramètres de ce modèle :  $g_{e0} \approx g_L$ ,  $g_{i0} \approx 5g_{e0}$ ,  $\tau_e \approx 3\text{ms}$ ,  $\tau_i \approx 10\text{ms}$ ,  $\sigma_e \approx 1.10^{-3}$  et  $\sigma_i \approx 5.10^{-3}\mu S$ .

5. Ce processus peut être généré en tirant à chaque instant une variable aléatoire distribuée selon une loi Gaussienne. La densité spectrale de puissance de ce bruit est plat sur l'ensemble des fréquences.

$g_{e0}$  et  $g_{i0}$  sont des fonctions linéaires de la surface électrotonique des neurones (surface dépolarisée à l'équilibre), la conductance de fuite par unité de surface étant approximativement invariante d'un neurone à l'autre.  $\tau_e$  et  $\tau_i$  ne présentent pas à priori de dépendance aux caractéristiques géométriques et électrophysiologiques des neurones. Enfin,  $\sigma_e$  et  $\sigma_i$  pourraient dépendre de la surface électrotonique, mais cette dépendance n'a pas clairement été mise en évidence.

Il est possible de donner plusieurs interprétations biophysiques aux équations de la dynamique des conductances synaptiques. En effet, il est possible de dériver ces équations en considérant que l'entrée des synapses est constituée d'un grand nombre d'impulsions pré-synaptiques indépendantes et générées par des processus de Poisson homogènes. Cette approximation est appelée approximation de diffusion (Tuckwell, 1988). Il est aussi possible de supposer qu'il existe des corrélations entre ces différents trains d'impulsions pré-synaptiques (Destexhe et al., 2001). Du point de vue biophysique, la relation de proportionnalité entre  $g_{e0}$  et la surface peut être expliquée par le fait que les cellules plus larges reçoivent plus de connexions synaptiques (Destexhe et al., 2001). Les valeurs mesurées pour les constantes de temps correspondent à celles des processus ioniques intervenant dans les courants synaptiques (Destexhe et al., 2001).

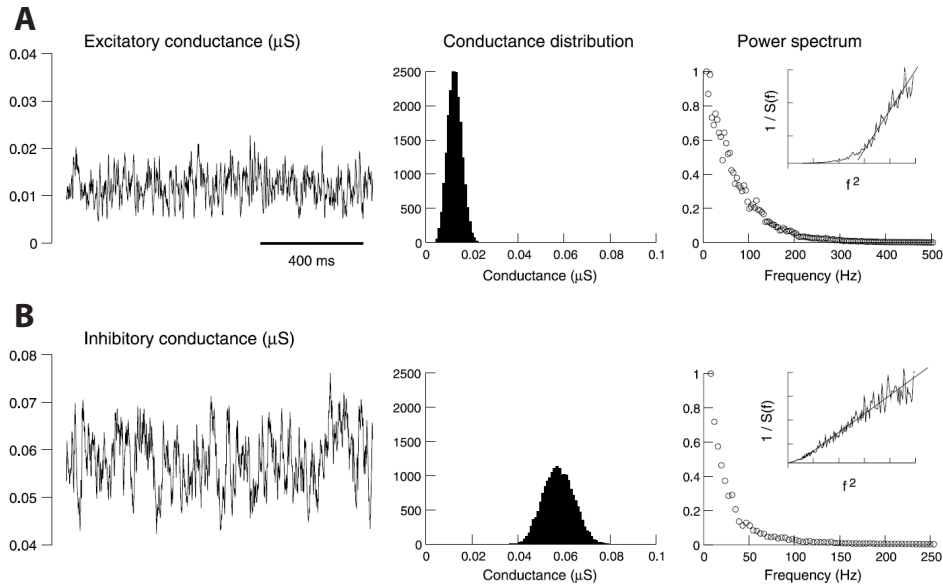


FIGURE 2.7 – Bruit de fond synaptique. Les caractéristiques temporelles, statistiques et fréquentielles des conductances synaptiques excitatrices (A) et inhibitrices (B) ont été représentées. Ces caractéristiques ont été mesurées à partir du modèle de la dynamique des conductances synaptiques (Eq. 2.2). (Extrait de Destexhe et al. (2001))



### Corrélations temporelles fines des entrées synaptiques

Nous allons maintenant présenter les preuves empiriques de corrélations temporelles sur des échelles de temps courtes dans les entrées synaptiques. Dans les conditions naturelles, il peut exister des corrélations temporelles au sein de l'excitation, au sein de l'inhibition, et entre l'excitation et l'inhibition. Une grande partie des évidences empiriques de ces corrélations a été obtenue indirectement, à partir de la dynamique ou de la statistique de l'activité membranaire.

A partir d'enregistrement dans les neurones pyramidaux du néocortex, Léger et al. (2005) ont mesuré la trajectoire moyenne de  $V$  sur une période de 10 ms précédant l'initiation des impulsions. Ils ont observé que  $V$  croît continuellement de 5 mV sur cette période. Supposant alors que les potentiels post-synaptiques excitateurs (PPSE) durent en moyenne 10 ms, sont d'amplitude 0,1 mV et sont activés avec une fréquence de 4,5 PPSE/s, ils en infèrent qu'une superposition indépendantes d'au moins 10 000 PPSE ne suffirait pas à rendre compte de cette vitesse de dépolarisation.

DeWeese and Zador (2006) ont réalisé des enregistrements intracellulaires *in vivo*, dans les neurones du cortex auditif, pour différentes stimulations : sons courts, sons longs, silence et régime spontané avec blocage des canaux Na par un anesthésiant (TTX). De plus, ils ont enregistré spécifiquement l'activité des neurones pour lesquels les stimuli n'étaient pas optimaux, c'est-à-dire ne déchargeant pas à leur fréquence maximale en présence d'un son. Ils qualifient ce régime d'épars ("sparse") ou de faible décharge. Ils ont observé que pour toutes les conditions, sauf pour celle avec anesthésiant, la distribution de  $V$  n'était pas Gaussienne. Plus précisément, ils ont observé que  $V$  fluctuait autour du potentiel d'équilibre et subissait occasionnellement de brusques sauts de l'ordre de quelques dizaines de millivolt (voir Fig. 2.8). Ils ont alors cherché les statistiques des entrées synaptiques permettant de rendre compte de ces observations à partir d'un modèle linéaire de la dynamique de  $V$ . Ils ont observé que l'excitation seule ou l'excitation et l'inhibition, décrites par des processus de Poisson homogènes et indépendants, ne permettent pas d'obtenir les résultats observés *in vivo*. Au contraire, en prenant l'intensité de ces processus dépendante du temps (processus dit inhomogène) et modulée sur des échelles de temps courtes (de l'ordre de 10 ms), ils ont retrouvé grossièrement les observations *in vivo* (voir Fig. 2.8). Ils affirment que de meilleurs résultats peuvent être obtenus si, additionnellement, des corrélations entre excitation et inhibition sont prises en compte. Des observations similaires pour la dynamique du potentiel ont été faites par de nombreuses études, dans le cortex auditif et le cortex somatosensoriel, comme le soulignent les auteurs.

Une autre partie des preuves empiriques portent spécifiquement sur les corrélations temporelles entre conductances excitatrices et inhibitrices, à des échelles de temps très courtes (voir Fig. 2.9). Il n'existe pas de mesure directe de la dynamique de chacune de ces conductances, néanmoins celles-ci peuvent être inférées par différentes méthodes (Monier et al., 2008). Des corrélations temporelles à l'échelle de

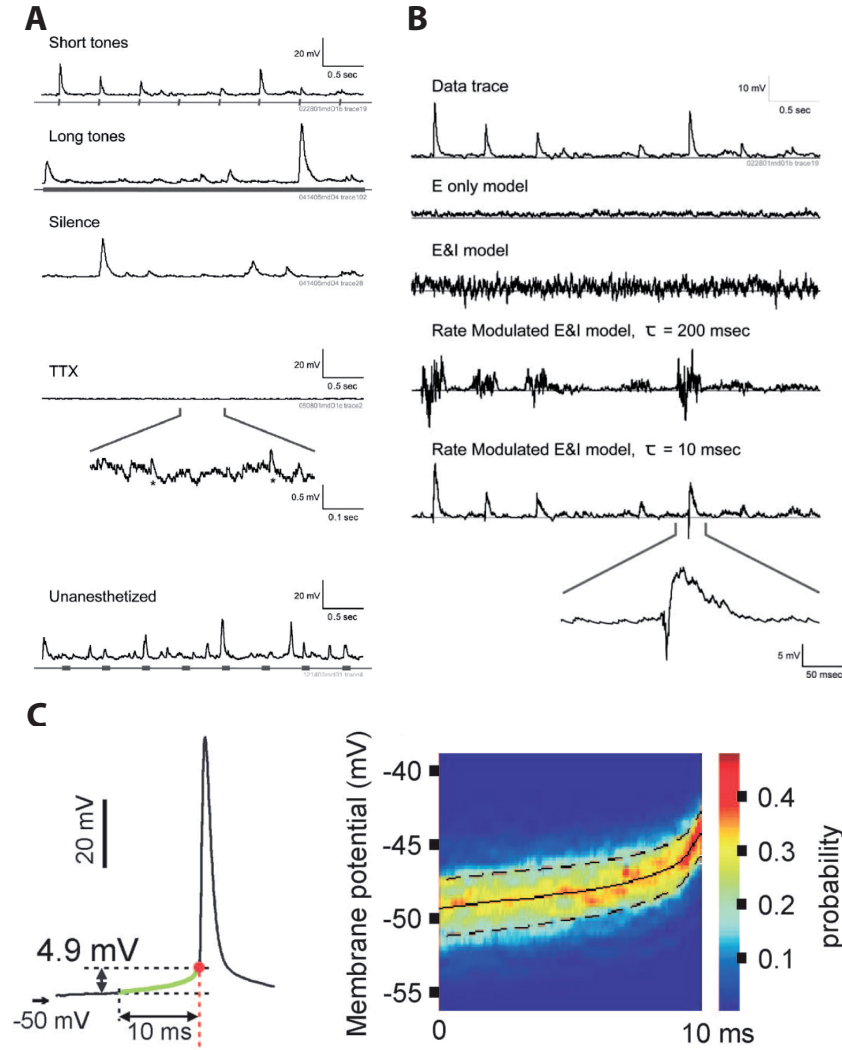


FIGURE 2.8 – Quelques preuves empiriques des corrélations temporelles fines dans les entrées synaptiques. A. Résumé des expériences réalisées par DeWeese and Zador (2006). Réponses du potentiel dans les neurones du cortex auditif, à différentes stimulations auditives ou à différentes conditions expérimentales. Nous pouvons constater les grandes amplitudes d'excursion de  $V$  en réponse aux stimulations auditives. B. La dynamique de  $V$  en régime évoqué est bien reproduite dans les simulations numériques par des processus de Poisson inhomogènes pour l'excitation et l'inhibition, dont les intensités sont modulés sur des échelles de temps courtes (En bas). De plus, cette dynamique n'est pas bien reproduite dans les autres cas testés, résumés dans le texte (E : excitation, I : inhibition,  $\tau$  constante de temps de modulation de l'intensité des processus). (Extrait de DeWeese and Zador (2006)) C. Léger et al. (2005) ont mesuré *in vivo*, dans les neurones néocorticaux, les trajectoires de  $V$  sur une période de 10 ms précédant les impulsions. Ils ont observé qu'en moyenne la vitesse de la dépolarisation dans cette période est de 0,5 mV/ms. Ils en déduisent qu'une superposition indépendante d'impulsions pré-synaptiques ne peut rendre compte de cette vitesse, même dans la limite d'un grand nombre. (Extrait de Léger et al. (2005))

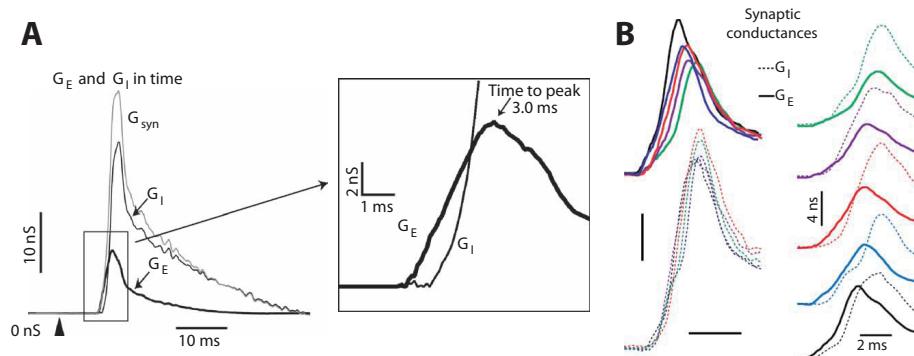


FIGURE 2.9 – Corrélations temporelles fines entre excitation et inhibition. A. Mesure indirecte de la dynamique des conductances excitatrices ( $G_e$ ) et inhibitrices ( $G_i$ ) dans les neurones du cortex somatosensoriel, à partir de celle de la conductance synaptique totale. B. Le délai entre les pics de  $G_e$  et  $G_i$  a été mesuré comme déterminé par la direction des déflexions des vibrisses du rat (à droite). Les mesures suggèrent qu'uniquement l'instant du pic de  $G_e$  varie selon les caractéristiques de ce stimulus (à gauche). (Extrait de Wilent and Contreras (2005a))

la milliseconde ont été observées en régime spontané et/ou évoqué dans différentes aires corticales : visuelles (Anderson et al., 2000; Monier et al., 2003, 2008; Azouz and Gray, 2008), auditives (Wehr and Zador, 2003; Tan et al., 2004; Tan and Wehr, 2009), somatosensorielles (Wilent and Contreras, 2005b; Okun and Lampl, 2008), associatives (Piwkowska et al., 2008) et hippocampales (Pouille and Scanziani, 2001). De façon intéressante, il a été observé pour les différentes aires sensorielles, que les instants relatifs entre pics d'excitation et d'inhibition peuvent dépendre des caractéristiques du stimulus : direction et orientation de barres glissantes pour la vision ; fréquence des sons pour l'audition ; direction de la déflexion des vibrisses pour la proprioception.

En résumé, il existe différentes évidences empiriques que les entrées synaptiques sont corrélées sur des échelles de temps courtes. Néanmoins, l'observation directe de ces corrélations dans les neurones centraux *in vivo* est particulièrement difficile pour des raisons techniques. Ainsi, les évidences empiriques que nous avons proviennent indirectement des observations de la dynamique du potentiel membranaire ou de la mesure de la conductance synaptique totale. La prise en compte de ces corrélations temporelles a permis de mieux comprendre l'importance de certaines caractéristiques de l'excitabilité neuronale, comme nous le verrons par la suite (cf. 2.4).

## 2.3 Modèles intègre-et-tire

Nous allons présenter maintenant le modèle intègre-et-tire à fuite et ses variantes. Nous allons essayer de montrer qu'ils sont appropriés pour décrire la décharge neu-

ronale.

### Le modèle intègre-et-tire à fuite

Le modèle intègre-et-tire à fuite (LIF de “Leaky Integrate-and-Fire”) est parfois appelé modèle de Lapicque, car il est inspiré de l’étude de Lapicque (1907) concernant la description de la réponse électrique du nerf sciatique de la grenouille. Néanmoins, il a pris sa forme définitive dans les années soixante avec l’étude de la décharge en présence d’entrées synaptiques stochastiques (Brunel and van Rossum, 2007). Il constitue la principale alternative au modèle HH pour décrire la réponse des neurones, notamment *in vivo* (Herz et al., 2006). Au contraire du modèle HH, le seuil est posé explicitement et seule la dynamique sous le seuil est décrite. Autrement dit, ce modèle omet de décrire le phénomène d’excitabilité et la forme des PA, ce qui simplifie considérablement l’analyse mathématique de la décharge neuronale. Dans le modèle intègre-et-tire à fuite, le potentiel membranaire  $V$  obéit simplement à une équation de relaxation :

$$\tau \frac{dV}{dt} = V_R - V + I \quad (2.3)$$

où  $\tau$  est la constante de temps d’intégration,  $V_R$  est le potentiel de repos et  $I$  l’entrée du modèle (homogène ici à un voltage). De plus, une condition aux limites particulières caractérise ce modèle :  $V$  est réinitialisé à un potentiel fixé (en général  $V_R$ ) dès que  $V > \theta$ , avec  $\theta$  le seuil de voltage. Seule cette condition aux limites apporte une difficulté à l’analyse mathématique de ce modèle. Par ailleurs, la période réfractaire peut être prise en compte en fixant par exemple  $V$  à  $V_R$  pendant une certaine durée juste après le franchissement du seuil.

Plusieurs études ont montré que ce modèle peut être obtenu à partir du modèle HH en effectuant une série d’approximations (Destexhe, 1997; Kistler et al., 1997; Abbott and Kepler, 1990). Brièvement, nous pouvons facilement constater à partir des équations HH (Eqs. 3.2) que : si le courant  $K$  est négligé, si l’inactivation du courant  $Na$  est négligée, si l’activation du courant  $Na$  est instantanée et si la courbe d’activation suit une fonction d’Heaviside (en créneau) alors l’équation HH pour  $V$  se ramène à l’équation LIF. Néanmoins, ces approximations ne sont pas en général réalistes pour les neurones : le courant  $K$  peut être très rapide (Shu et al., 2007b), l’inactivation du courant  $Na$  peut être très rapide (cf. 3.2) et la pente de la courbe d’activation (en son centre) peut être faible (Martina and Jonas, 1997). Ce modèle doit en fait être considéré comme un modèle phénoménologique. Des études récentes ont en effet montré que le modèle LIF donne une bonne prédiction de la dynamique de la décharge neuronale (Jolivet et al., 2008b,a). Plus précisément, un protocole a été mis en place par Jolivet et al. (2006) pour tester l’efficacité de prédiction du modèle LIF ou de ses variantes. Cette procédure consiste à stimuler *in vitro* un neurone cortical par un courant fluctuant et d’enregistrer simultanément le potentiel. Le même courant est répété plusieurs fois pour estimer la précision temporelle de la décharge. Ensuite, les paramètres du modèle LIF sont optimisés pour interpoler la

série des instants de décharge. Il s'est avéré que le modèle LIF ou ses variantes donne une très bonne prédiction de cette série temporelle, en tenant compte de la limite imposée par la précision de la décharge. Plus précisément, au moins 70% des instants de décharge sont correctement prédits, lorsque la variabilité du courant d'entrée est suffisamment grande. Néanmoins, cette qualité de prédiction diminue fortement pour des variabilités plus faibles, la reproductibilité des instants de décharge étant beaucoup moins nette.

## Variantes

Le modèle LIF apporte un cadre théorique particulièrement simple pour l'étude de la décharge neuronale *in vivo*. En contrepartie, cette simplicité ne permet pas de prendre en compte la richesse des comportements, la diversité et la complexité des neurones *in vivo*. Dans cette perspective, de nombreux modèles de type intègre-et-tire (IF) ont été développés (Burkitt, 2006a). Le point commun à tous ces modèles est l'absence de description de la forme complète des PA et la réinitialisation artificielle de  $V$  après déclenchement d'une impulsion. Enfin, même si ces modèles sont plus complexes mathématiquement que le modèle LIF standard, ils restent néanmoins plus simples que les modèles HH : nombre de paramètres plus réduits, équations simplifiées et seuil explicite ou aisément explicitable.

Au vu du très grand nombre de modèles IF développés, nous nous attacherons simplement à décrire deux modèles de ce type particulièrement pertinents pour nos études : le modèle IF à seuil dynamique standard et le modèle IF exponentiel. Commençons par décrire le premier modèle. Ce modèle a été introduit pour la première fois par Perkel et al. (1964), pour l'étude des neurones à décharge rythmique. Leur problème principal portait sur le phénomène de régulation de la fréquence de décharge, pour des entrées excitatrices ou inhibitrices. Ce modèle s'exprime mathématiquement sous la forme :

$$\tau_\theta \frac{d\theta}{dt} = \theta_0 - \theta \quad (2.4)$$

$$\tau \frac{dV}{dt} = V_r - V + I \quad (2.5)$$

où  $\theta_0$  et  $\tau_\theta$  sont respectivement la valeur de repos et la constante de temps du seuil. De plus, après chaque instant de décharge,  $\theta$  est incrémentée de  $a$  ( $\theta(t_0^+) = \theta(t_0^-) + a$ , avec  $t_0$  un instant d'impulsion). Enfin, comme pour le modèle intègre-et-tire à seuil fixe, la condition de décharge est explicite et donnée par :  $V(t) > \theta(t)$ . Ce modèle a été largement étudié dans les années soixante, dans le cadre de l'activité rythmique des neurones (Jack et al., 1975). Il a connu un regain d'intérêt cette dernière décennie, d'une part pour son implication fonctionnelle sur la transmission du signal nerveux (Liu and Wang, 2001; Chacron et al., 2000; Brandman and Nelson, 2002), d'autre part pour l'interpolation de données électrophysiologiques dans les neurones pyramidaux du néocortex (Camera et al., 2004; Jolivet et al., 2006). Par ailleurs, nous avons confirmé dans la première étude que

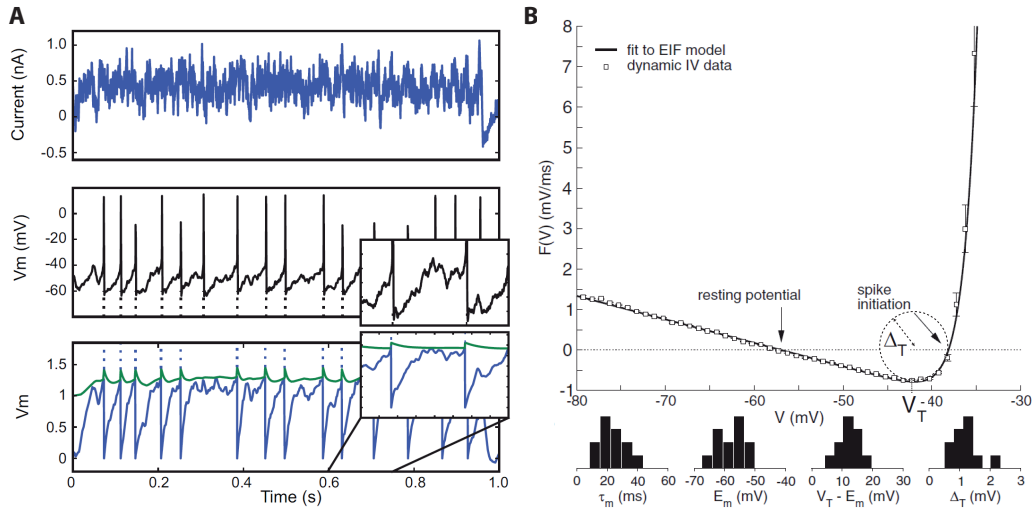


FIGURE 2.10 – Variantes du modèle intègre-et-tire. A. Modèle classique à seuil dynamique : le seuil est incrémenté à chaque décharge puis relaxe vers sa valeur à l'équilibre (cf. Eq. 2.5). Ce modèle permet bien de prédire les instants d'impulsions pour certains enregistrements. (Extrait de Rossant et al. (2010)) B. Modèle exponentiel intègre-et-tire (EIF) (cf. Eq. 2.6). Ce modèle est principalement caractérisé par un mécanisme "naturel" de déclenchement d'impulsion. Deux paramètres sont essentiels à sa caractérisation :  $V_T$  le voltage au seuil de courant et  $\Delta_T$  le facteur de pente d'impulsion. Il s'avère que ce modèle donne une excellente prédiction de la dynamique du potentiel. (En haut) La réponse de  $V$  (quantifiée par  $V$  et  $F(V) = C \frac{dV}{dt}$ ) à un courant bruité a été superposée à la prédiction donnée par le modèle EIF. (En bas) Nous pouvons constater que les paramètres de ce modèle, notamment  $V_T$ , présentent une certaine variabilité d'un enregistrement à l'autre. (Adapté de Badel et al. (2008))

l'inactivation lente du courant Na est un mécanisme possible pour rendre compte de cette dynamique du seuil. Motivés par les succès d'un modèle aussi simple, de nombreux modèles à seuil dynamique ont été proposés : dynamique fluctuante du seuil (Knight, 1972; Gestri et al., 1980; Gabbiani et al., 1996; Davidsen and Schuster, 2002; Lindner et al., 2005), dynamique oscillante (Glass et al., 1980; Keener et al., 1981; Coombes, 1999) ou dynamique couplée à celle du potentiel (Dodla et al., 2006). Néanmoins, tous ces modèles considèrent un mécanisme "abrupt" de déclenchement d'impulsion :  $V$  est réinitialisé dès qu'il franchit le seuil  $\theta$ .

Récemment, il a été développé de nombreux modèles IF à seuil explicite mais à mécanisme "mou" de déclenchement d'impulsion (Izhikevich, 2007). Pour ces modèles, nous n'aborderons que le modèle dit intègre-et-tire exponentiel (EIF), étant donnée son importance cruciale dans nos études. Ce modèle a été introduit par Fourcaud-Trocmé et al. (2003) pour l'étude de la transmission des composantes hautes-fréquences des signaux dans les neurones corticaux. Ce modèle ou ses variantes se sont avérés particulièrement efficaces pour prédire les instants de décharge, dans le cadre du protocole décrit précédemment (Clopath et al., 2007; Badel et al., 2008; Jolivet et al., 2008b,a). Ce modèle s'exprime mathématiquement sous la forme :

$$C \frac{dV}{dt} = g_L \Delta_T e^{\frac{V-V_T}{\Delta_T}} + g_L(E_L - V) + I \quad (2.6)$$

où  $V_T$  et  $\Delta_T$  sont les paramètres d'initiation des impulsions :  $V_T$  correspond au seuil et  $\Delta_T$  à la vitesse de montée des impulsions. Les paramètres  $C$ ,  $g_L$  et  $E_L$  représentent les paramètres passifs classiques. Néanmoins, comme pour le modèle LIF, leur interprétation est à prendre avec précaution. En effet, dans l'interpolation des données électrophysiologiques, ses paramètres sont optimisés et ne mesurent donc pas directement les paramètres passifs. Enfin, le potentiel  $V$  est réinitialisé à  $E_L$  lorsqu'il diverge vers l'infini (en pratique pour  $V > 20\text{mV}$ ).

La principale spécificité de ce modèle par rapport au modèle LIF et plus généralement au modèle à seuil abrupt, est la prise en compte de la non-linéarité du mécanisme de génération d'impulsion. Pour ce modèle, bien que  $V_T$  soit qualifié de seuil de voltage, il est possible que  $V > V_T$  et qu'aucune impulsion ne soit générée. Pour comprendre cela, reprenons l'analyse faite dans le premier chapitre (cf. 1.3). Réécrivons ainsi l'équation EIF sous la forme :

$$C \frac{dV}{dt} = F(V) + I$$

Nous pouvons voir dans la Figure 2.10 que l'allure de  $F$  dans l'équation EIF est similaire à celle de l'équation HH uni-dimensionnelle étudiée au chapitre 1 (Eq. 1.10). Autrement dit, l'analyse du seuil par une approche dynamique des systèmes faite pour l'équation HH, est aussi valable pour cette équation. Or, nous pouvons faire remarquer que :

$$F'(V_T) = 0$$

c'est-à-dire  $V_T$  est le voltage au minimum de  $F$ . Ainsi, comme nous l'avons vu, cette grandeur représente précisément le voltage au seuil de courant  $I$ . Par ailleurs, nous

avons vu que pour des entrées rapides, le voltage au seuil est donné à l'intersection entre  $F$  et l'axe horizontal. Ce seuil de voltage sera donc bien plus grand que  $V_T$ . Il est aussi possible d'estimer le temps écoulé entre le franchissement de  $V_T$  et le déclenchement de l'impulsion pour  $\Delta_T$  petit, comme le suggèrent Fourcaud-Trocmé and Brunel (2005). On considère pour cela une entrée constante  $\mu = \frac{I}{g_L} > V_T - E_L$  et on calcule le temps mis par  $V$  pour aller de  $V_T$  à  $\mu$ . Nous obtenons alors pour  $\Delta_T \ll 1$  :

$$T \sim \frac{\tau \Delta_T}{\mu - V_T + E_L} \log \frac{\mu - V_T + E_L + \Delta_T}{\Delta_T}$$

Autrement dit,  $T \sim \Delta_T |\log \Delta_T|$ . Ce résultat nous permet clairement de constater que la vitesse de montée des impulsions est d'autant plus grande que  $\Delta_T$  est petit. Nous pouvons aussi faire remarquer que :

$$\Delta_T = \frac{g_L}{F''(V_T)}$$

Ce paramètre est donc proportionnel au rayon de courbure de  $F$  en son minimum. Cela nous donne une interprétation géométrique intéressante de la vitesse de montée des impulsions : plus  $F$  est courbée en son minimum, plus le modèle prédit une vitesse rapide de montée. Dans ce cadre, le modèle LIF peut être vu comme une approximation asymptotique d'un modèle EIF, dans la limite  $\Delta_T \rightarrow 0$ . Son seuil de voltage sera alors donné par  $\theta = V_T$ .

Ainsi, nous venons de voir que le modèle EIF donne une description minimale du phénomène d'initiation des PA, caractérisée en première approximation par : un seuil sur le paramètre de stimulation et une vitesse variable de montée des PA. Dans les conditions où les entrées ont des dynamiques complexes, le modèle EIF sera plus pertinent que le modèle LIF pour décrire la réponse des neurones, comme l'ont montré Fourcaud-Trocmé et al. (2003).

## 2.4 Seuil d'impulsion *in vivo*

Nous avons vu au chapitre précédent, que de nombreux phénomènes spécifiques au seuil d'excitabilité ont été observés *in vitro*. Toutes ces observations ont été bien expliquées grâce au modèle HH. Néanmoins, le développement des techniques d'enregistrement intracellulaire *in vivo* et avec injection de courant fluctuant ont renouvelé l'intérêt pour le phénomène de seuil d'excitabilité. En effet, l'ensemble des expériences sur le seuil réalisées *in vitro* utilisaient des stimulations de dynamique non réaliste du point de vue physiologique. Le nombre de dynamiques de stimuli était très limité (impulsion, créneau, rampe, sinusoïde) et donc seul un nombre limité de caractéristiques du seuil pouvait être mis en évidence. De plus, l'intérêt croissant pour le rôle des instants de décharge et des corrélations temporelles dans la dynamique neuronale, et pour le problème de la transmission et du traitement de l'information au sein des réseaux neuronaux a renforcé l'importance de la détermination du seuil.



## Définitions

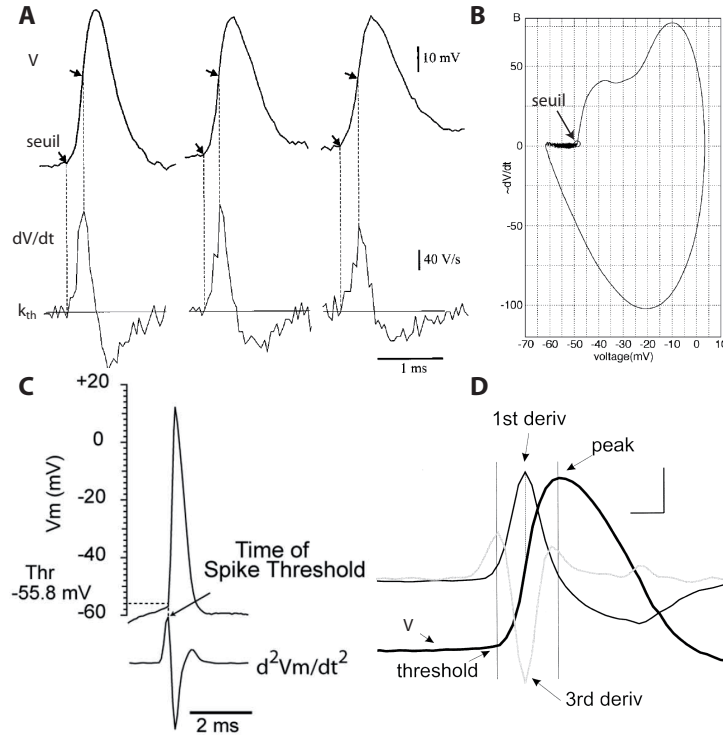


FIGURE 2.11 – Mesures empiriques du seuil. A. Le voltage à l’initiation des PA ou seuil empirique peut être mesuré à partir de  $dV/dt$  en fixant un critère empirique  $k_{th}$ . (Adapté de Azouz and Gray (1999)) B. Le seuil empirique peut être mesuré à partir de la représentation de la trajectoire du système dans le plan  $(V, dV/dt)$ , par différentes méthodes. (Adapté de Sekerli et al. (2004)) C. Le seuil peut être mesuré à partir du pic de la dérivée seconde. (Extrait de Wilent and Contreras (2005b)) D. Le seuil peut être mesuré à partir du premier pic de la dérivée troisième. (Adapté de Henze and Buzsáki (2001))

Bien que toutes les mesures *in vivo* mentionnées fassent référence à un seuil d’impulsion, cette notion n’existe pas à proprement parler dans ces conditions. En effet, nous avons vu au premier chapitre que le seuil est une valeur critique d’un paramètre de contrôle. Or, une des principales caractéristiques des enregistrements *in vivo* est l’absence de paramètre de contrôle. Pour les traces de potentiel *in vivo*, c’est en fait le voltage au début de chaque impulsion qui est mesuré. Le seuil *in vivo* est donc une mesure géométrique à partir de la forme des PA. La qualité de la mesure dépend donc fortement de cette forme : plus la phase de montée des PA est abrupte, plus cette mesure sera précise. Par la suite, nous ferons référence à ce seuil en terme de seuil empirique.

De façon intéressante, Sekerli et al. (2004) ont comparé la performance de différentes méthodes de mesure du seuil empirique. Pour tester leur performance, ils ont sélectionnés différents types d’enregistrements intracellulaires à la fois *in vitro* et

*in vivo*. Ils ont appliqué alors leurs méthodes sur les traces du potentiel correspondantes pour mesurer les seuils. En parallèle, ils ont demandé à un certain nombre d'électrophysiologistes experts de mesurer à l'oeil nu le seuil pour ces traces. La comparaison entre leurs mesures et celles des électrophysiologistes leur a permis d'estimer la performance de chaque méthode. Ce sont soit des méthodes standards utilisées par les électrophysiologistes, soit des méthodes qu'ils ont eux-mêmes développées. Ces méthodes font appel à des analyses purement géométriques et parfois aussi à des principes physiologiques. Nous allons brièvement décrire et commenter l'ensemble des méthodes exposées :

- La méthode la plus standard consiste à mesurer, pour chaque impulsion,  $V$  lorsque  $dV/dt$  dépasse pour la première fois un critère empirique. C'est la méthode la plus utilisée récemment pour la mesure du seuil *in vivo* (Wickens and Wilson, 1998; Azouz and Gray, 1999; Léger et al., 2005; Khaliq and Raman, 2006; Naundorf et al., 2006; McCormick et al., 2007; Kole and Stuart, 2008; Hu et al., 2009). Selon l'étude de Sekerli et al. (2004), cette méthode peut faire partie des plus performantes, mais sa performance dépend fortement du choix du critère empirique. Les auteurs affirment ne pas avoir trouvé de méthode systématique pour déterminer la valeur de ce critère.
- Deux méthodes mesurent le seuil aux pics de  $d^2V/dt^2$  et  $d^3V/dt^3$ . Ces méthodes ont été notamment utilisées par Henze and Buzsáki (2001); Wilent and Contreras (2005b), qui ont effectués des mesures sur l'adaptation du seuil *in vivo*. Néanmoins, ces méthodes font partie des moins performantes, mais fonctionnent bien pour détecter les variations du seuil.
- Deux méthodes, développées par Sekerli et al. (2004), utilisent la représentation de la dynamique de  $V$  dans le plan de phase  $(V, dV/dt)$ . De façon schématique, elles mesurent le seuil au point d'inflexion des trajectoires représentées dans ce plan. La première méthode mesure le voltage à la pente maximale de la courbe  $dV/dt$  en fonction de  $V$ . La seconde méthode mesure le voltage à la valeur maximale de la dérivée seconde de la courbe  $dV/dt$  en fonction de  $V$ . Cette dernière méthode fait partie des plus performantes.
- Deux méthodes utilisent simplement la représentation de la réponse neuronale dans le plan  $(t, V)$ . De façon schématique, elles mesurent le seuil au point d'inflexion de  $V(t)$  à l'initiation des PA par des arguments géométriques. La première méthode consiste à mesurer  $V$  au minimum de  $dV/dt$ . La seconde consiste à mesurer  $V$  au point où le rayon de courbure est maximal. Ce rayon de courbure est donné par  $K = d^2V/dt^2 [1 + (dV/dt)^2]^{-3/2}$ . Ces méthodes font aussi partie des plus performantes.

### Observations *in vivo*

Nous allons maintenant énumérer les différentes études expérimentales portant sur la mesure du seuil *in vivo*. Ces mesures font toutes appel aux méthodes décrites précédemment et majoritairement à la dernière méthode mentionnée. Dans le Tableau 2.4, nous avons résumé les différentes mesures de la variabilité du seuil,

obtenues dans des différentes conditions expérimentales et différentes aires corticales. Nous avons de plus ajouté les mesures de la variabilité du potentiel afin de la comparer celle du seuil. Nous avons noté  $\sigma_\theta$  et  $\Delta\theta$  respectivement l'écart-type et la plage de variation du seuil mesuré. Nous avons noté  $\Delta V$  la plage de variation du potentiel membranaire mesuré sous le seuil.

Dans le Tableau 2.4, les notations utilisées sont :  $\sigma_\theta$  pour l'écart-type de la distribution du seuil,  $\Delta\theta$  pour la plage de variation du seuil<sup>6</sup> (l'écart-type de  $\theta$  n'étant pas donné pour certaines études),  $\Delta V$  pour la plage de variation du voltage (l'écart-type de  $V$  n'était pas donné en général). Les valeurs indiquées laissent supposer que le seuil présente une variabilité significative comparée à celle du potentiel membranaire, dans les conditions naturelles. De plus, cette variabilité semble être une propriété que l'on retrouve dans différentes aires sensorielles, et pour différents types cellulaires d'une même aire (Azouz and Gray, 2000). De façon intéressante, il a été mis en évidence que cette variabilité est liée à celle de l'entrée. Cela suggère que cette variabilité n'est pas principalement intrinsèque. La plupart de ces études suggèrent que cette variabilité pourrait être liée à des mécanismes déterministes impliqués dans l'excitabilité.

Auteurs	Aire	Stimulation	$\sigma_\theta$ (mV)	$\Delta\theta$ (mV)	$\Delta V$ (mV)
Azouz and Gray (1999)	cortex visuel	visuelle <sup>7</sup>	2,3	9	20
Azouz and Gray (2000)	-	visuel	2,3	13	-
-	-	spontané <sup>8</sup>	1,4	X	-
-	-	in vitro <sup>9</sup>	0,6	2,5	-
Henze and Buzsáki (2001)	hippocampe	spontané	1,7	5,7	15
Naundorf et al. (2006)	cortex visuel	visuelle	X	4	20
Yu et al. (2008)	cortex préfrontal	<i>in vitro</i> <sup>10</sup>	2,4 (soma)	X	20
-	-	-	1,2 (axone)	X	20

6. Différence entre la valeur maximale et minimale de  $\theta$ . Pour certaines études, cette valeur n'étant pas donnée directement, nous l'avons estimé à partir de la distribution du seuil présentée.

7. L'animal est anesthésié et visualise des alternances de luminosité en translation.

8. L'animal est anesthésié et n'est soumis à aucun stimuli physiques.

9. Stimulation de la forme d'un créneau de courant.

10. Injection de conductances synaptiques fluctuantes.

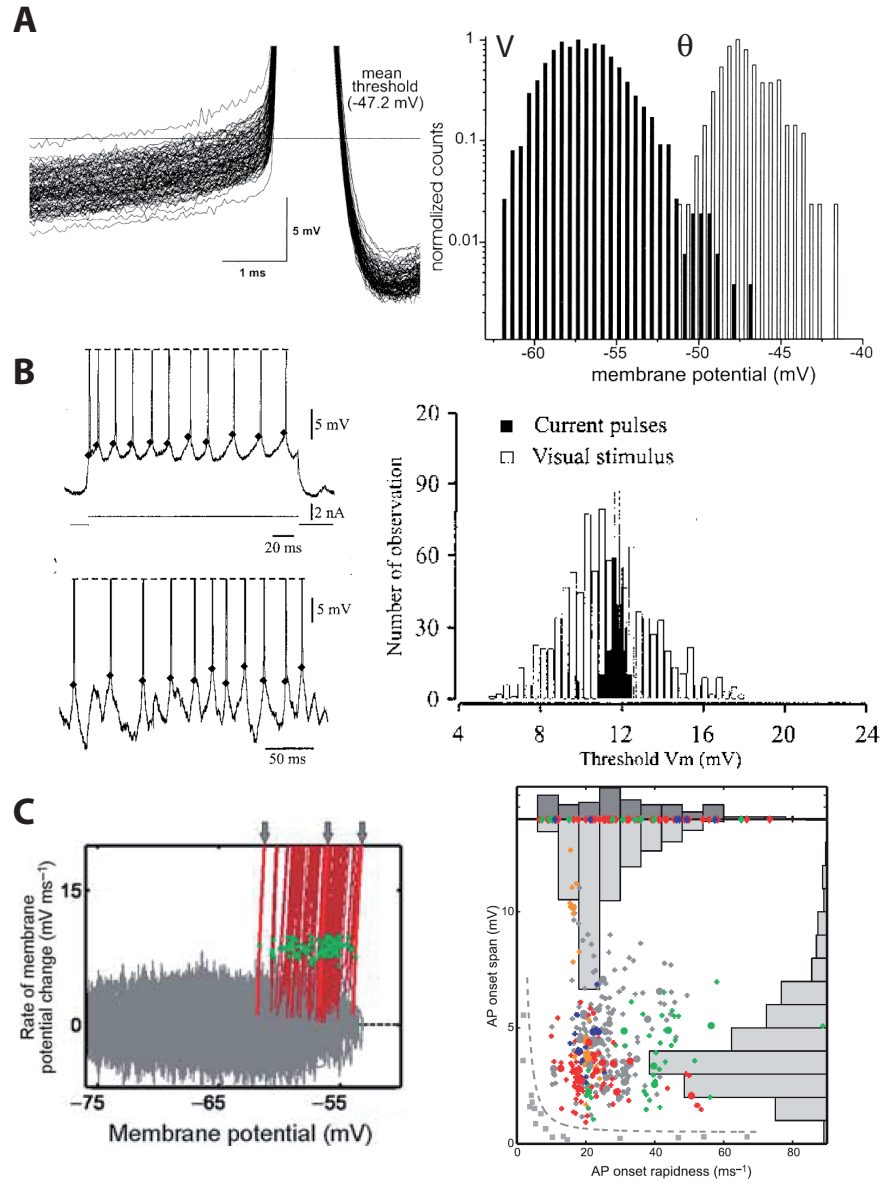


FIGURE 2.12 – Mise en évidence de la variabilité du seuil dans les enregistrements *in vivo*. A. (A gauche) Superposition de traces du potentiel correspondant à la période précédant l'initiation des PA. (A droite) Distribution du potentiel membranaire (V) et du seuil ( $\theta$ ). Nous pouvons constater que la variabilité de  $\theta$  est significative par rapport à celle de V et qu'il y a une superposition claire des deux distributions. (Extrait de Henze and Buzsáki (2001)) B. Augmentation de la variabilité du seuil *in vivo*. (A gauche) Le potentiel a été mesuré, pour une même cellule du cortex visuel, dans les conditions *in vitro* en réponse à un créneau de courant (en haut) et *in vivo* en présence d'un stimulus visuel (en bas). (A droite) La distribution du seuil confirme que sa variabilité est plus élevée *in vivo*. (Extrait de Azouz and Gray (2000)) C. Forte variabilité du seuil associée à une montée brusque des PA dans différents types de neurones corticaux (voir texte). (Extrait de Naundorf et al. (2006))

Néanmoins, il n'est pas exclu de penser que cette variabilité est essentiellement artefactuelle, comme l'affirment McCormick et al. (2007); Yu et al. (2008). D'une part, hormis l'étude de Yu et al. (2008), toutes les expériences mentionnées correspondent à des enregistrements faits au soma, dans des neurones où les PA sont initiés à l'axone. Or, cela induit une variabilité supplémentaire du seuil mesuré, ne reflétant donc que les conditions d'enregistrement. Nous pouvons expliquer ce point par un raisonnement simple. Supposons que le potentiel croît linéairement au soma et que les PA sont initiés à un voltage fixe à l'axone (Fig.

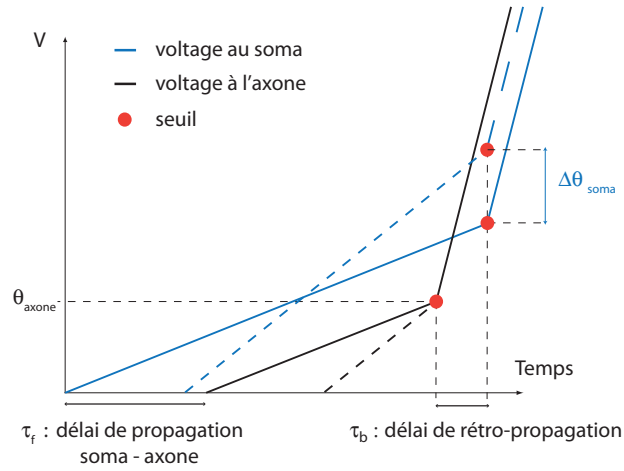


FIGURE 2.13 – L'enregistrement au soma augmente de façon artefactuelle la variabilité du seuil. Dans ce schéma, le seuil à l'axone  $\theta_{axone}$  est supposé fixe et seules des dépolarisations linéaires sont considérées. Les PA ne sont initiés qu'à l'axone et les PA apparents au soma reflètent uniquement l'onde réfléchie.

2.13). Etant donné le délai de la propagation de la dépolarisation du soma à l'axone et celui de la rétro-propagation des PA de l'axone au soma, le seuil mesuré au soma pourra être variable bien que les PA soient tous initiés au même voltage. Cet effet sera d'autant plus prononcé que la dynamique de  $V$  est fluctuante, comme observée *in vivo*. D'autre part, la mesure empirique du seuil *in vivo* ajoute aussi une variabilité artefactuelle du seuil, comme nous le verrons dans le prochain paragraphe. En somme, il est possible que la variabilité substantielle mesurée du seuil soit liée en grande partie aux méthodes d'enregistrement et de mesure, ce qui limiterait alors l'intérêt de l'étude du seuil.

Cependant de nombreuses expériences *in vivo* ont montré que le seuil est une grandeur dynamique, déterminée par l'histoire de l'activité membranaire. Ces expériences renforcent l'hypothèse d'une variabilité importante du seuil liée aux mécanismes d'excitabilité. Nous allons maintenant les énumérer et résumer brièvement leurs principaux résultats (dont l'essentiel est représenté Figure 2.14) :

- Azouz and Gray (2000, 2003) ont observé plusieurs caractéristiques du seuil dans les neurones du cortex visuel, en réponse à des stimuli visuels typiques. Ils ont observé que le seuil était négativement corrélé avec la pente moyenne de dépolarisation ( $\langle dV/dt \rangle$ ), estimée sur une brève période précédant l'initiation des PA (10 ms). La courbe de corrélation est bien interpolée par une équation du type  $y = a + be^{-x/c}$ . Ils ont de plus observé que les valeurs des paramètres ( $a, b, c$ ) dépendaient du potentiel membranaire moyen. Plus précisément, la

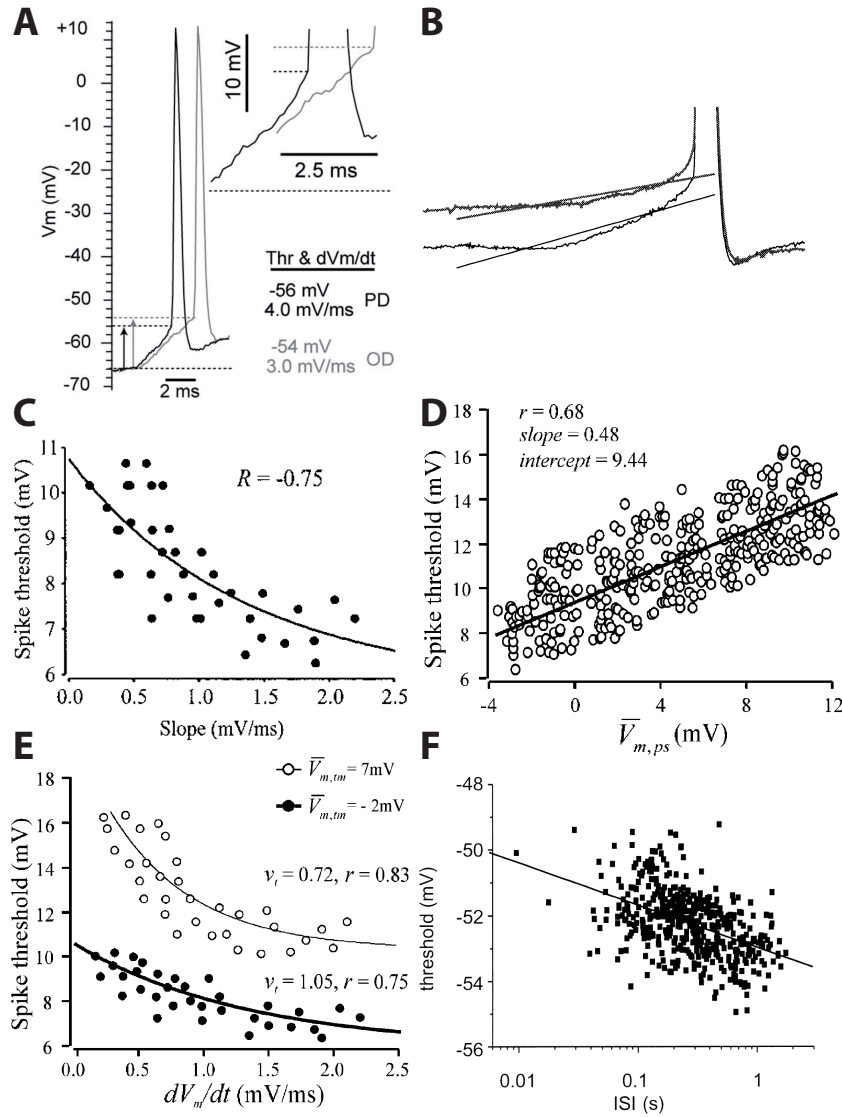


FIGURE 2.14 – Observations *in vivo* pour la dynamique du seuil. A. Pour une pente de dépolarisation plus élevée, le seuil est plus bas. (Extrait de Wilent and Contreras (2005b)) B. La pente de dépolarisation est mesurée selon les études sur une période allant de 2,5 ms à 10 ms, par régression linéaire. (Extrait de Henze and Buzsáki (2001)) C. Corrélation négative entre le seuil et la pente de dépolarisation. (Extrait de Azouz and Gray (2000)) D. Corrélation négative entre le seuil et la valeur moyenne du potentiel (noté ici  $\bar{V}$ ), mesurée sur une période de l'ordre de 250 ms. (Extrait de Azouz and Gray (2003)) E. Dépendance de la corrélation seuil - pente au potentiel moyen, mesuré sur toute la période de l'enregistrement : cette corrélation est a priori d'autant plus grande que le potentiel moyen est grand. (Extrait de Azouz and Gray (2003)) F. Corrélation négative entre le seuil et la durée entre deux impulsions (ISI). (Extrait de Henze and Buzsáki (2001))

- corrélation (en particulier  $c$ ) augmente avec  $\langle V \rangle$ . Par ailleurs, ils ont observé que le seuil est positivement et linéairement corrélé au potentiel membranaire moyen, estimé sur une période de 250 ms précédant l'initiation des impulsions.
- Wilent and Contreras (2005b) ont enregistré l'activité des neurones du cortex somatosensoriel en réponse à des déflexions angulaires des vibrisses du rat. Ils ont alors observé de façon similaire que le seuil était négativement et linéairement corrélé à la pente moyenne de dépolarisation, estimée sur une période de 2.5 ms précédant l'initiation des PA. Néanmoins, les corrélations obtenues ne sont pas aussi précises que pour les mesures dans le cortex visuel.
  - Wickens and Wilson (1998) ont mesuré le seuil dans les neurones épineux du neostriatum, dans différentes conditions : injection de créneau de courant, stimulation corticale et régime spontané. Ils ont observé que la valeur moyenne du seuil variait entre ces différentes conditions, mais que dans tous les cas, le seuil était d'autant plus élevé que la pente de dépolarisation était faible.
  - Hu et al. (2009) ont observé dans des neurones du cortex préfrontal, en régime spontané, que le seuil était positivement et linéairement corrélé au potentiel moyen, estimé sur une période de 0.4 ms. Cela n'était pas le cas pour le seuil mesuré à l'activation des canaux Na du soma et des dendrites. Ce dernier seuil, d'environ -20 mV, est repéré par la deuxième inflexion de la trajectoire de la réponse représentée dans  $(V, dV/dt)$ .
  - de Polavieja et al. (2005) ont enregistré *in vitro* la réponse des neurones pyramidaux du cortex visuel, lors d'injection de conductances fluctuantes au soma, de façon à imiter les courants synaptiques *in vivo*. Ils ont mesuré différentes caractéristiques de la forme des PA, dont le seuil. Ils ont observé que le seuil est négativement corrélé à la pente moyenne de dépolarisation, estimée sur une période de 10 ms précédant l'initiation. De façon intéressante, ils ont observé, comme Azouz and Gray (2003), que la courbe de corrélation est bien interpolée par une exponentielle décroissante. Par ailleurs, ils ont observé des corrélations linéaires et négatives entre la hauteur des PA et le seuil, et la vitesse de montée des PA et le seuil.
  - Henze and Buzsáki (2001) ont observé pour les neurones de l'hippocampe, en régime spontané, que le seuil était négativement et linéairement corrélé à la pente de dépolarisation, estimée sur 10 ms. Néanmoins, leur corrélation n'est pas aussi précise que dans les mesures de Azouz and Gray (2003). Par ailleurs, ils ont observé une corrélation plus nette, négative et linéaire, entre le seuil et l'ISI (pour une impulsion donnée, le seuil mesuré est corrélé avec la durée écoulée depuis l'impulsion précédente). Ils ont de plus observé que le seuil est corrélé de façon significative aux instants des six impulsions précédentes, comprises dans une période d'environ 1 s. Les auteurs affirment avoir observé des comportements similaires pour des cellules pyramidales CA3.
  - Badel et al. (2008) ont enregistré le potentiel membranaire dans des neurones pyramidaux du cortex somatosensoriel lors d'injection de courant fluctuant. Ils ont mesuré le paramètre  $V_T$  du modèle EIF (Eq. 2.6) en utilisant une technique développée pour cette étude. Ils ont mesuré que le seuil  $V_T$  diminue

avec la durée entre deux impulsions. Autrement dit, leur résultat concorde avec celui de Henze and Buzsáki (2001).

En résumé, de nombreuses observations *in vivo* ou imitant les conditions *in vivo*, dans différentes aires corticales, ont confirmé que la variabilité du seuil n'est pas à priori artefactuelle. Elle peut dépendre de la dynamique de  $V$  sur des échelles de temps allant de la milliseconde à la seconde et à l'histoire des instants de décharge, c'est-à-dire de la fréquence de décharge instantanée, sur des périodes courtes de l'ordre de la seconde. Tous les auteurs de ces études suggèrent que cette adaptation du seuil serait liée à la dépendance au voltage des processus ioniques, impliqués dans le retour à l'équilibre du potentiel. Plus précisément, ils proposent, pour ces mécanismes, l'inactivation rapide ou lente du canal Na (Azouz and Gray, 2000, 2003; Henze and Buzsáki, 2001; de Polavieja et al., 2005; Wilent and Contreras, 2005b; Hu et al., 2009) ou l'activation rapide du canal K (Azouz and Gray, 2003). Par ailleurs, il est intéressant de mentionner que ces corrélations observées entre le seuil et les différents paramètres caractérisant la dynamique de  $V$  ou de la décharge ont aussi été observés récemment *in vitro*, dans différentes aires corticales (Reyes and Fetz, 1993b,a; Fricker et al., 1999; Ferragamo and Oertel, 2002; Gittelman and Tempel, 2006; McGinley and Oertel, 2006; Guan et al., 2007; Goldberg et al., 2008; Kuba and Ohmori, 2009).

### Implications fonctionnelles

Au vu des résultats mentionnés sur la dynamique du seuil *in vivo*, on pourrait argumenter que l'essentiel de ces phénomènes avait déjà été observée *in vitro* dans l'axone du calamar (cf. 1.3). Néanmoins, il n'était pas évident que ces observations restent valides pour les neurones corticaux *in vivo*, étant donné les différences de caractéristique et de dynamique décrites précédemment (cf. 2.1). De plus, au vu des connaissances actuelles sur l'intégration par les neurones des entrées synaptiques, ces observations sur le seuil y apportent un nouvel éclairage.

Nous allons maintenant reprendre les différentes observations résumées et commenter pour chacune l'implication sur l'intégration synaptique mentionnée par Azouz and Gray (2000, 2003) :

- La corrélation négative entre le seuil et la pente de dépolarisation renforce la conception du neurone comme un détecteur de coïncidence. Dans la situation où le neurone ne reçoit que des PPSE, la pente de dépolarisation croît avec leur degré de synchronisation. Cette corrélation prédit donc que plus PPSE sont synchrones, plus le seuil est bas. Autrement dit, le neurone sera d'autant plus à même de décharger que les entrées excitatrices sont corrélées. Un raisonnement similaire pourrait s'appliquer en considérant des entrées excitatrices et inhibitrices corrélées (voir Fig. 2.16).
- Si la corrélation seuil-pente est bien augmentée avec le potentiel moyen ( $\langle V \rangle$ ), le neurone présente une propriété de détection de coïncidence adaptative. Nous avons vu précédemment que la capacité de détection de coïncidences du neu-



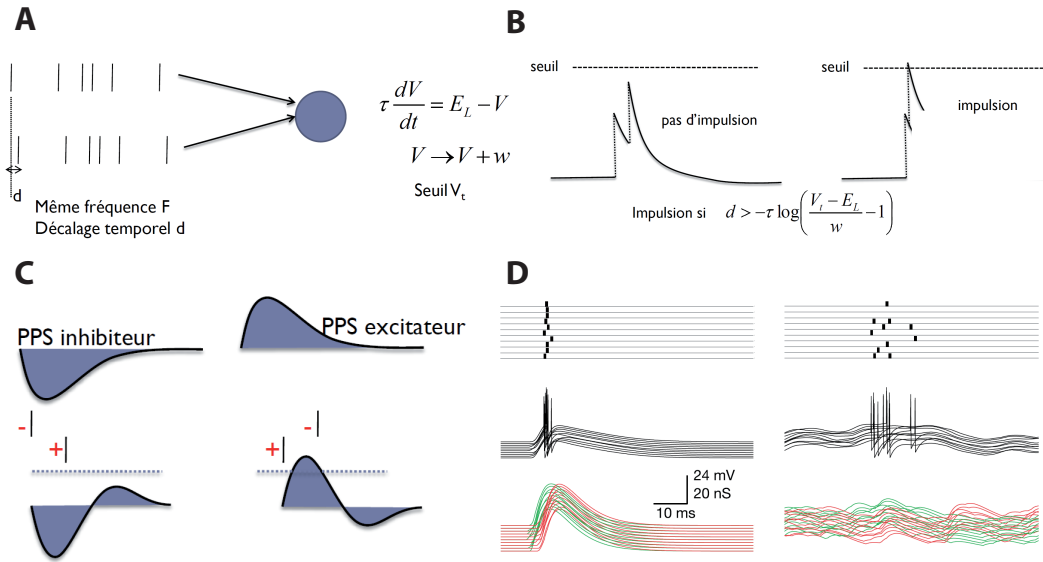


FIGURE 2.15 – Détection de coïncidences. A. On considère la situation où un modèle LIF de seuil reçoit deux trains d'impulsions de même fréquence mais décalés temporellement d'une période  $d$ . A chaque arrivée d'une impulsion,  $V$  est incrémenté de  $w$  tel que  $\frac{V_t - E_L}{2} < w < V_t - E_L$ .  $w$  étant positif, les activations synaptiques seront excitatrices. B. Une impulsion ne sera pas émise si le décalage temporel entre les deux trains n'est pas suffisamment petit ( $d > -\tau \log(\frac{V_t - E_L}{w} - 1)$ ) (à gauche) et sera émise dans le cas contraire (à droite). On dit que le neurone - modèle agit comme un détecteur de coïncidences. C. Le dérouls temporel de  $V$  sera totalement différent selon l'agencement temporel des arrivées des potentiels post-synaptiques excitateurs (PPSE) et inhibiteurs (PPSI). D. Simulation d'un modèle LIF recevant des PPSE et PPSI. (En haut) Instants de décharge du modèle (tiret noir) pour différents essais, chaque ligne représentant un essai. (En bas) Dérouls temporel de  $V$  (noir) résultant de la sommation temporelle de conductance excitatrice (vert) et inhibitrice (rouge). Le neurone - modèle n'est précis que dans le cas où l'excitation et l'inhibition sont corrélées (à gauche). Nous pouvons aussi noter que la pente de dépolarisation précédant les impulsions est plus grande dans le cas où il y a corrélation. (Extrait de Wehr and Zador (2003))

- rone est liée à la corrélation seuil - pente. Donc dans ce cas, la propriété de détection de coïncidences sera d'autant plus accentuée que  $\langle V \rangle$  est grand.
- La corrélation positive entre le seuil et le potentiel moyen révèle un comportement de modulation de gain (voir Fig. 2.16). En admettant que la probabilité de déclencher une impulsion est donnée par la différence entre  $\langle V \rangle$  et seuil, cette probabilité sera relativement invariante selon les valeurs de  $\langle V \rangle$  dans ce cas.
  - La corrélation négative entre le seuil et l'ISI implique un phénomène d'adaptation à la fréquence de décharge, appelé aussi accommodation. Lorsque la durée entre deux impulsions est grande, le seuil est bas et le neurone est alors plus à même de décharger. Lorsque la durée entre deux impulsions est courte, le seuil est haut et le neurone est alors moins à même de décharger. On peut ainsi comprendre intuitivement le phénomène de régulation. Ce cas peut être bien décrit par le modèle LIF à seuil dynamique décrit précédemment (Eq. 2.5).

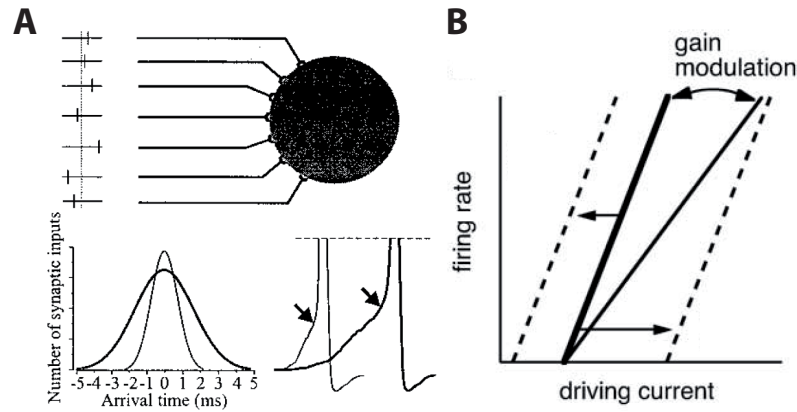


FIGURE 2.16 – Implications de la dynamique du seuil pour l'intégration synaptique. A. (En haut) Impulsions pré-synaptiques en entrée d'un neurone via des synapses uniquement excitatrices. Dans ce schéma, les impulsions sont fortement synchronisées. (En bas, à gauche) Deux distributions pour les instants d'arrivées des impulsions pré-synaptiques. (En bas, à droite) La pente de dépolarisation du neurone sera d'autant plus grande que ces impulsions sont synchronisées. Trajectoire simulée à partir d'un modèle biophysique de neurone cortical. (Extrait de Azouz and Gray (2000)) B. La modulation de gain correspond à un changement dans la relation fréquence de décharge - courant d'entrée. (Extrait de Chance et al. (2002))

Les observations *in vivo* sur le seuil font ainsi apparaître des propriétés intéressantes des conditions de décharge sur les entrées synaptiques. Ces observations sont particulièrement instructives par rapport à la conception classique de l'intégration synaptique résumée précédemment, où le seuil de décharge est fixe. A partir de ces descriptions qualitatives, nous pouvons commencer à comprendre que ces conditions sont hautement dynamiques et adaptatives. Cela change aussi la conception de la transmission des signaux dans les réseaux neuronaux, renforçant notamment l'importance de la précision temporelle et de l'adaptation de la décharge. De plus, ces

phénomènes seraient reliés à la sélectivité sensorielle des neurones. Azouz and Gray (2003) et Wilent and Contreras (2005b) ont mis en évidence respectivement pour la vision et la proprioception, que cette dynamique du seuil renforçait cette sélectivité. Cette sélectivité est quantifiée par la relation entre un paramètre du stimulus physique<sup>11</sup> et la fréquence de décharge de certains neurones. On dit que ces neurones sont d'autant plus sélectifs que cette courbe est piquée. Ainsi, il semblerait que la dynamique du seuil accentue le pic des courbes de sélectivité. Dans notre seconde étude, nous avons apporté une description beaucoup plus quantitative aux implications sur l'intégration synaptique décrites ici qualitativement.

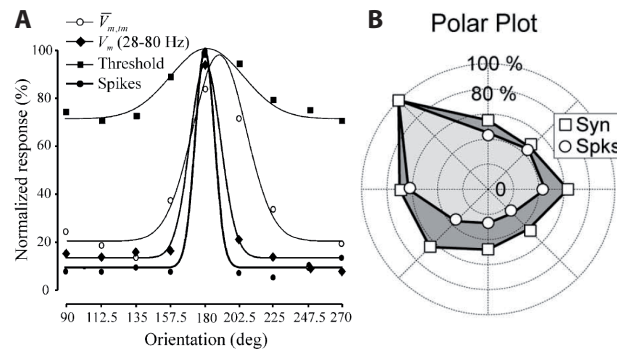


FIGURE 2.17 – La dynamique du seuil renforcerait la sélectivité sensorielle. A. Courbes de sélectivité à l'orientation de barres pour les neurones du cortex visuel. Ces courbes ont été tracées soit directement à partir des enregistrements (rond noir ou “Spikes”), soit en injectant l'entrée réelle enregistrée pour ces neurones dans un modèle, notamment un modèle à seuil fixe (carré noir ou “Threshold”). Nous pouvons constater que pour un seuil fixe, la sélectivité prédite est beaucoup moins précise que pour les mesures expérimentales. (Extrait de Azouz and Gray (2003)) B. Diagramme de sélectivité à l'orientation des déflexions de vibrisses pour les neurones du cortex somatosensoriel. Ces courbes ont été tracées soit à partir de la mesure du nombre d'impulsions émises pour chaque direction (rond blanc), soit à partir de l'amplitude de la dépolarisation membranaire, sans tenir compte des impulsions, aussi pour chaque direction (carré blanc). Nous pouvons constater que la réponse transmise par les neurones a apporté un filtrage supplémentaire par rapport au signal d'entrée. (Extrait de Wilent and Contreras (2005b))

### Problème de la mesure empirique

Nous avons évoqué précédemment que le seuil mesuré *in vivo* n'était pas à proprement parler un seuil d'excitabilité. Cependant, il est difficile de concevoir que ces deux grandeurs n'aient aucun lien, étant donné la correspondance entre les observations *in vitro* et *in vivo*. Nous allons montrer maintenant à partir d'un modèle d'excitabilité élémentaire comment sont reliées ces deux grandeurs.

11. Ce paramètre correspond à une direction de la déflexion angulaire des vibrisses du rat pour Wilent and Contreras (2005b) et à la direction de barres en translation pour Azouz and Gray (2003).

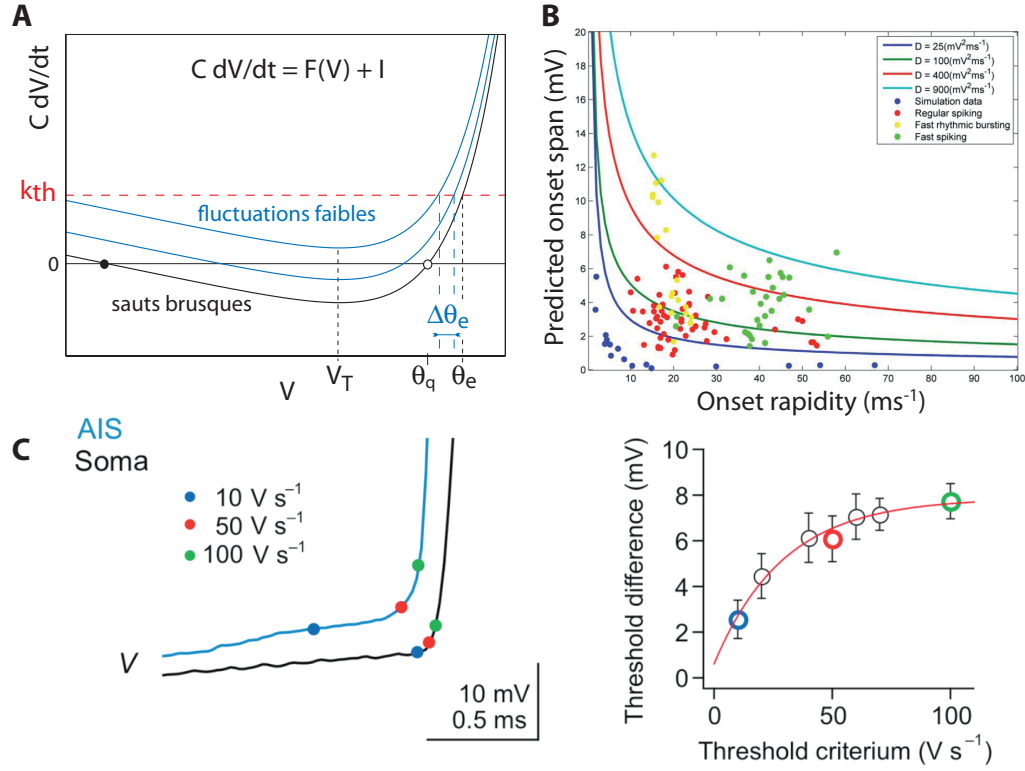


FIGURE 2.18 – Lien entre seuil empirique, déterminée à partir de  $dV/dt$  et seuil théorique. A. Le seuil empirique peut être explicitement relié au seuil théorique. La représentation du seuil empirique  $\theta_e$  dans le plan de phase est claire pour un modèle uni-dimensionnel ( $k_{th}$  correspond au critère empirique). Il peut alors être relié au voltage au seuil de courant  $V_T$  ou au voltage au seuil de charge (ou d'impulsion)  $\theta_q$ . Dans le cas où  $I$  varie autour du seuil avec des fluctuations lentes (en bleu), le seuil empirique présentera une variabilité artificielle ( $\Delta\theta_e$  correspond à la plage de variation du seuil). Dans le cas où  $I$  subit des sauts brusques (en noir), le seuil empirique est fixe. B. Colwell and Brenner (2009) ont montré, pour un modèle uni-dimensionnel, que la simple mesure empirique du seuil permettait d'observer des résultats similaires à ceux de Naundorf et al. (2006), en faisant varier la statistique des entrées. (Extrait de Colwell and Brenner (2009)) C. La détermination précise du critère empirique  $k_{th}$  est cruciale pour la mesure du seuil. Si ce critère est mal choisi, les variations du seuil empirique ne reflèteront pas celle du seuil d'excitabilité, notamment au site d'initiation (AIS).

Considérons pour cela le modèle EIF, dont on a vu qu'il était analogue à l'équation de type HH où seule l'activation instantanée est prise en compte (Eq. 1.10). De plus, nous choisissons pour la méthode de mesure du seuil empirique, la méthode à partir de  $dV/dt$ , d'une part pour faciliter la correspondance mathématique avec le seuil d'excitabilité et d'autre part pour se référer à une méthode très utilisée. Posons  $k_{th}$  le critère empirique fixant le seuil pour  $dV/dt$ . Avec cette définition, le seuil empirique, noté  $\theta_e$ , peut être relié simplement à  $V_T$ , dont on rappelle qu'il est le voltage au seuil de courant :

$$Ck_{th} = g_L \Delta_T e^{\frac{\theta_e - V_T}{\Delta_T}} + g_L(E_L - \theta_e) + I$$

Ce qui donne :

$$\theta_e = V_T + \Delta_T \log \frac{\theta_e - (E_L + I/g_L - \tau k_{th})}{\Delta_T} \quad (2.7)$$

L'expression précédente montre aussi que la variabilité du courant d'entrée  $I$  apportera une variabilité du seuil mesuré, alors que le voltage au seuil d'excitabilité  $V_T$  est constant. Cette variabilité peut être estimée géométriquement à partir du modèle EIF en traçant, dans  $(V, dV/dt)$ ,  $F(V) + I$  pour les deux valeurs extrémales de  $I$  et en mesurant la projection sur l'axe des  $V$  des points tels que  $F(V) + I = Ck_{th}$  (voir Fig. 2.10). Cela donne néanmoins une surestimation.

Cette variabilité artefactuelle peut être plus ou moins accentuée selon la dynamique du courant d'entrée. Par exemple, considérons la situation où  $I$  est bien décrit par des fluctuations faibles autour d'une intensité moyenne. Le voltage au seuil est alors donné par  $V_T$ . De plus, le minimum de la courbe  $F(V) + I$  restera localisée autour de  $V_T$ . Par contre, le seuil empirique peut subir d'importantes variations, comme la représentation géométrique le suggère (voir Fig 2.18). Dans ce cas, une forte variabilité artefactuelle est ajoutée à la mesure du seuil.

Une autre situation est celle où  $I$  est faible et présente occasionnellement des sauts brusques, comme dans le régime de faible décharge où les entrées sont corrélées (cf. 2.2). Le voltage au seuil est alors donné par  $\theta_q$ . La courbe  $F(V) + I$  reste alors invariante (sauf pour les moments d'excursion de  $V$ , considérés suffisamment rapides pour ne pas être pris en compte). Dans ce cas, une faible variabilité artefactuelle est ajoutée à la mesure du seuil.

Dans une étude théorique à partir du modèle HH, Colwell and Brenner (2009) ont étudié pour différentes statistiques d'entrée, la relation entre plage de variation du seuil et vitesse de montée des PA, mise en évidence par Naundorf et al. (2006). Plus précisément, ils ont analysé une équation de type HH où seule l'activation instantané est prise en compte, avec en entrée des conductances fluctuantes décrites dans le cadre de l'approximation de la constante de temps effective (Richardson and Gerstner, 2005). Ils ont fait varier le coefficient de diffusion des fluctuations et ont calculé la plage de variation du seuil empirique, calculé à partir de  $dV/dt$ . Ils ont montré que, pour des vitesses de montée des PA faibles, cette plage est d'autant plus grande que le coefficient de diffusion est grand (cf. 2.18). Ainsi, ils ont bien explicité le fait que le seuil empirique puisse être variable sans mécanisme de variabilité du seuil et que cette variabilité est positivement corrélée à celle de l'entrée.

# Bases moléculaires de l'excitabilité

## 3.1 Les canaux ioniques sont des protéines

Il est important de rappeler que pour Hodgkin et Huxley, les canaux sodium et potassium n'étaient que des entités abstraites. En effet, ils avaient seulement postulé l'existence de tels canaux, donnant ainsi une interprétation plus mécanistique et intuitive de leur modèle. Au vu des techniques expérimentales de l'époque, il ne leur était de toute manière pas envisageable de mettre en évidence ces canaux. Cela rend l'efficacité de leur modèle encore plus surprenante, étant donné la somme de connaissances qui s'est accumulée sur la structure moléculaire et les caractéristiques biophysiques des canaux ioniques (Hille, 2001).

### Expériences fondatrices

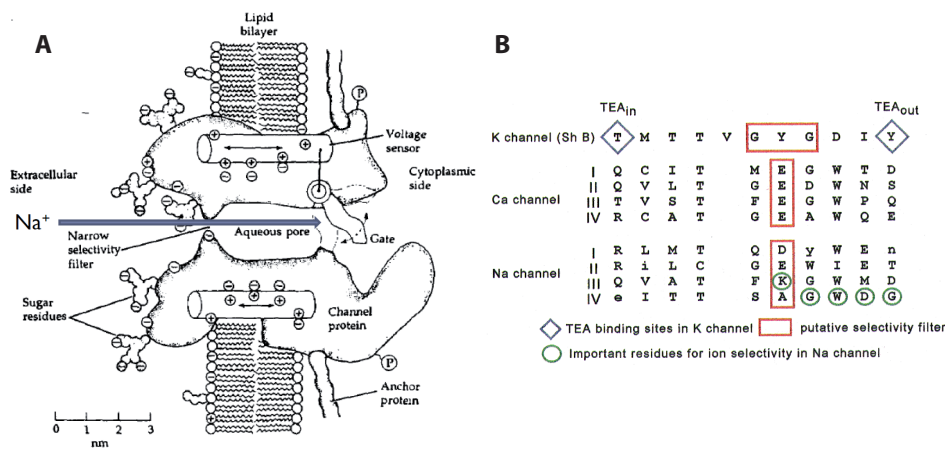


FIGURE 3.1 – Les canaux sodium sont des protéines. A. Schéma d'une des premières représentations de la structure moléculaire des canaux Na. (Extrait de Hille (2001)) B. Les canaux sodium, potassium et calcium font partie d'une même grande famille de gènes homologues. Dans ce tableau, sont présentés les structures en acides aminés primaires de ces protéines. (Extrait de Marban et al. (1998))

Il a fallu en fait attendre deux décennies après l'article fondateur de Hodgkin et Huxley pour que l'existence des canaux ioniques soient confirmée et que leur nature commence à être caractérisée. D'une part, les expériences utilisant le blocage sélectif des canaux grâce à des molécules comme le TTX et le TEA et l'estimation

de conductance ont permis de conclure que les canaux Na et K sont des pores aqueux distincts et que le transport d'ions est réalisé essentiellement par ces canaux (Hille, 2001). D'autre part, les travaux d'électrophysiologie utilisant la technique en "patch clamp" développée par Neher and Sakmann (1976), permettant de mesurer le courant circulant à travers un canal unique, ont apporté la confirmation décisive de ces observations (Sigworth, 1980; Hamill et al., 1981). Enfin, les analyses de la structure moléculaire des canaux ioniques, plus précisément de leur structure génétique, ont montré que les canaux Na, K et Ca voltage-dépendants font partie de la même grande famille de gènes homologues (Noda et al., 1984), impliquant que les résultats obtenus pour un canal donné peuvent être généralisés aux autres.

### La famille des canaux sodium voltage-dépendants

La famille des canaux sodium voltage-dépendants, comportant la sous-unité  $\alpha$ , possède neuf membres (Goldin, 2001; Catterall et al., 2005). La notation adoptée pour cette famille de protéines est Nav1, l'indice v indiquant que le canal est voltage-dépendant et l'indice 1 indiquant qu'il comporte la sous-unité  $\alpha$  (Goldin et al., 2000). De plus, la notation pour chaque membre est de la forme Nav1.i, où i est l'indice du membre donné dans la famille. Par la suite, quand nous parlerons de canaux sodium voltage-dépendants sans spécifier le type nous les noterons simplement Nav, car l'ensemble des canaux que nous considérons sont de type Nav1. Cette famille est caractérisée par une grande similarité de structure entre les membres. Il a été effectivement mesuré que la similarité dans la séquence d'acides aminés entre les différents membres est supérieure à 75% (Hille, 2001; Catterall et al., 2005), comme nous pouvons le constater dans la Figure 3.2. La similarité entre deux membres correspond simplement au nombre d'acides aminés en commun. Plus précisément, la similarité entre canaux Nav exprimés dans le système nerveux central est extrêmement grande (>90%). Par ailleurs, une des caractéristiques intéressante de cette famille est que chaque membre possède un lieu privilégié d'expression dans l'organisme (Trimmer and Rhodes, 2004; Catterall et al., 2005) (voir Fig. 3.2). De plus, il a été observé récemment que certains membres sont exprimés à un site précis au sein même du neurone et pourrait donc réaliser une fonction plus particulière que simplement initier les PA. Enfin, certains membres sont exprimés préférentiellement à certains stades du développement de l'organisme.

Nous allons maintenant décrire brièvement les différents membres de cette famille, en précisant leurs lieux d'expression et leurs fonctions ou propriétés connues. Commençons par décrire les canaux exprimés majoritairement dans le système nerveux central : Nav1.[1,2,3,6]. Parmi ces canaux, le plus pertinent pour notre objet d'étude est Nav1.6. En effet, ce canal est exprimé dans la majorité des neurones centraux matures (Boiko et al., 2003; Catterall et al., 2005). Il peut être exprimé sur l'ensemble de leur surface membranaire (Caldwell et al., 2000) et plus récemment, il a été observé au niveau du segment initial de l'axone (SIA) que parmi les canaux Nav exprimés, Nav1.6 est celui exprimé majoritairement

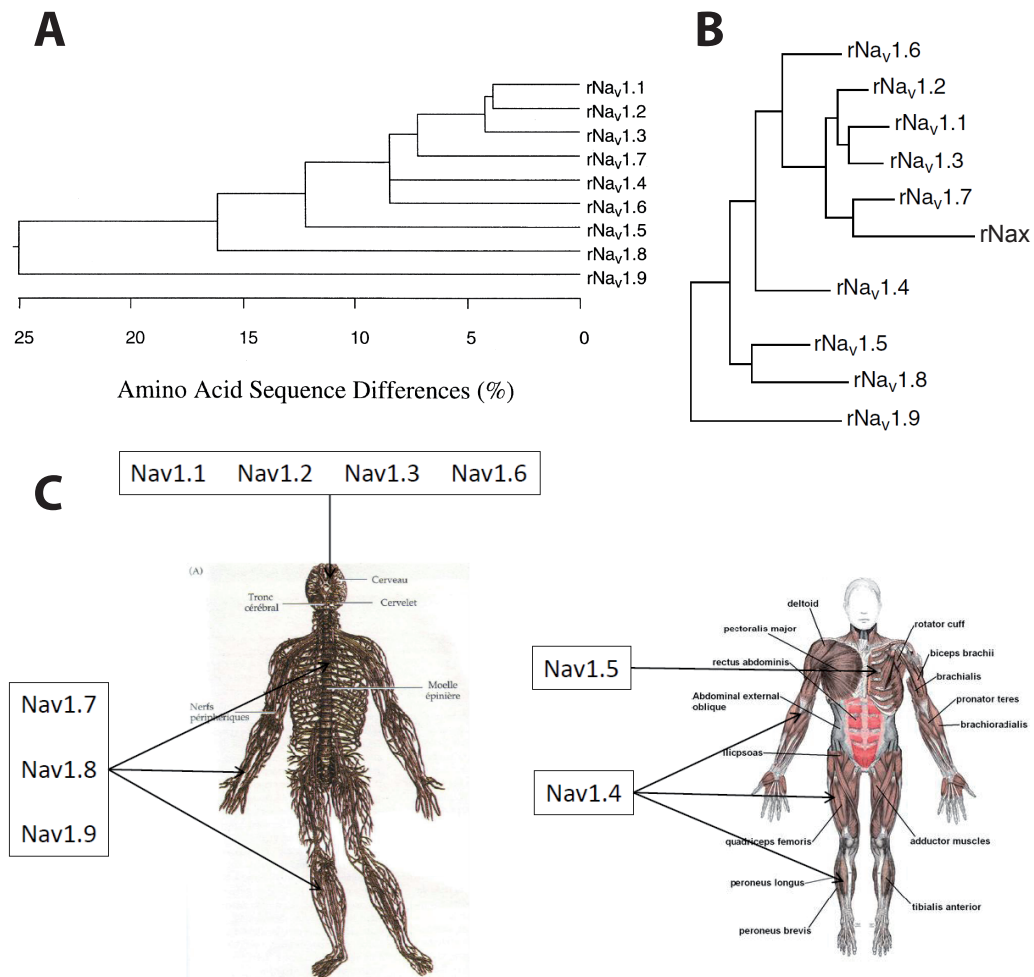


FIGURE 3.2 – Diversité des canaux sodium Nav. La famille des canaux sodium voltage-dépendants est constituée de neuf membres (Nav1.[1,...,9]). A. Cette famille est caractérisée par une grande similarité entre les séquences en acide aminé des différents membres. B. A partir de ce dendrogramme, il est possible d'inférer l'arbre phylogénétique de cette famille. (Adapté de Catterall et al. (2005)). C. L'expression de chaque type de canal Nav est faite dans une région spécifique de l'organisme. Schématiquement, Nav1.[1,2,3,6] sont exprimés uniquement dans les neurones centraux, Nav1.[4,5] sont exprimés uniquement dans les cellules musculaires et Nav1.[7,8,9] sont exprimés uniquement dans les neurones périphériques.



(Ogawa and Rasband, 2008; Lorincz and Nusser, 2008; Hu et al., 2009; Kress and Mennerick, 2009). Autrement dit, Nav1.6 serait responsable de l'initiation des potentiels d'action. Cette hypothèse a été confirmée par Hu et al. (2009) avec des enregistrements intracellulaires dans les neurones pyramidaux du cortex préfrontal et des simulations numériques. Le canal Nav1.1 est aussi très important pour notre étude. Il a été observé que dans les neurones inhibiteurs, outre Nav1.6, la fraction de Nav1.1 exprimée est significative (Ogiwara et al., 2007; Lorincz and Nusser, 2008). Nav1.1 serait donc impliqué dans la régulation de l'excitabilité, notamment pour éviter les crises d'épilepsie (Spampanato et al., 2003; Ogiwara et al., 2007). Par ailleurs, ce canal a aussi été observé dans le SIA de divers types de neurones (Wart et al., 2007; Duflocq et al., 2008). Nav1.2 est exprimé sur l'ensemble de la surface des neurones. Les enregistrements intracellulaires et les simulations numériques suggèrent que ce canal pourrait être responsable de la rétropropagation des PA (Hu et al., 2009). Enfin, Nav1.3 serait préférentiellement exprimé dans les premiers stades du développement du système nerveux central (Catterall et al., 2005).

Décrivons maintenant les autres membres de la famille des canaux sodium, moins pertinents pour nos problèmes. Nav1.[4,5] sont exprimés majoritairement dans les cellules excitables musculaires, réalisant une transduction entre activité électrique et contraction mécanique. Plus précisément, Nav1.4 est principalement exprimé dans les muscles striés et Nav1.5 est exprimé essentiellement dans le coeur. Le reste des membres connus de la famille des Nav comprend Nav1.[7,8,9]. Ces canaux sont exprimés majoritairement dans les neurones du système nerveux périphérique, intervenant notamment dans la transduction entre signaux physico-chimiques et signaux électriques (Kandel et al., 2000).

A partir des données sur la similarité des séquences d'acides aminés de ces protéines, il est possible d'établir un arbre phylogénétique de cette famille et par conséquent d'aborder la question de son évolution naturelle (Strong and Gutman, 1993; Plummer and Meisler, 1999; Lopreato et al., 2001; Goldin, 2002; Novak et al., 2006; Zakon et al., 2006; Hill et al., 2008). Sur la Figure 3.2, nous avons représenté un arbre phylogénétique possible pour les canaux Nav des mammifères, reconstruit sur ce principe. Néanmoins, l'organisation précise de ces arbres est à relativiser. Des arbres phylogénétiques des canaux Nav différents ont en effet été établis par différents groupes d'auteurs et même par un seul groupe d'auteurs (Novak et al., 2006). Ainsi, nous venons de voir que les canaux Nav recèlent une complexité inenvisageable par Hodgkin et Huxley, étant donné les progrès spectaculaires réalisés en biologie moléculaire depuis leur article fondateur. En première analyse, il est frappant de constater que la même protéine est responsable des PA dans les neurones corticaux et dans les cellules cardiaques et que sa structure est aussi similaire entre ces deux types de cellule. Il est aussi étonnant de voir à quel point les différents types de canaux Nav sont ségrégués spatialement dans l'organisme : à chaque type, il est possible d'attribuer une région nette de l'organisme où il est majoritairement exprimé. Enfin, il est intéressant de réaliser la sophistication dans la distribution des différents types au sein même d'un neurone central.

## Densité de canaux sodium au site d'initiation

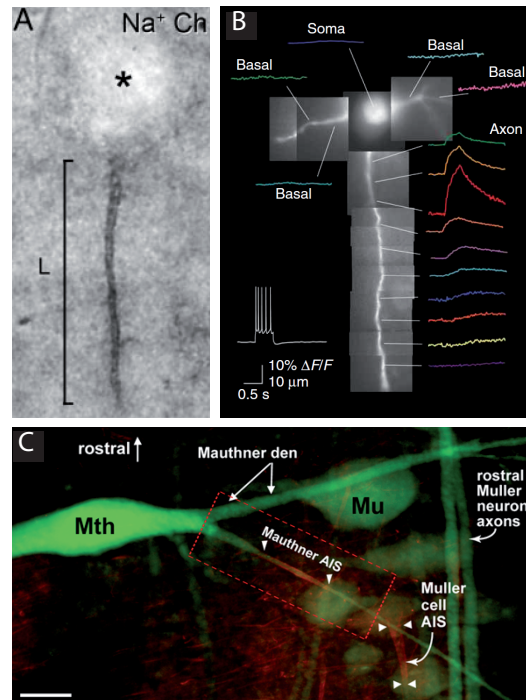


FIGURE 3.3 – Le segment initial de l'axone présente une très forte densité en canaux Nav. A. Photomicrographie des cellules pyramidales du néocortex. La zone sombre, correspondant au SIA, indique une forte densité de canaux Nav. (Extrait de Inda et al. (2006)) B. Image de fluorescence d'un neurone pyramidal du cortex somatosensoriel durant la génération d'un potentiel d'un PA. Les valeurs élevées de la fluorescence (au SIA) indique une forte concentration en canaux Nav. (Extrait de Kole et al. (2008)) C. Photographie par immunofluorescence de neurones de Mauthner (Mth) et de Müller (Mu). Les zones en rouge, localisées à différents segments initiaux ("AIS"), indiquent une forte aggrégation de canaux Nav. (Extrait de Hill et al. (2008))

Nous avons vu au chapitre précédent que les enregistrements intracellulaires ont bien mis en évidence que les PA sont initiés au SIA pour la plupart des neurones centraux des mammifères (cf. 2.1). Les techniques issues de la biochimie, consistant à bloquer de façon sélective le pore des canaux ioniques, ou de l'immunochimie, consistant à rendre fluorescent la protéine étudiée, ont permis de confirmer ces résultats et d'apporter d'autres éléments au problème. Il a été observé dans les neurones pyramidaux du cortex une forte densité le long du SIA (Inda et al., 2006; Khaliq and Raman, 2006; Hill et al., 2008; Kole et al., 2008; Hu et al., 2009). Cette densité se révèle être bien supérieure à celle de la zone soma-dendrite (de l'ordre de 50 fois plus grande) (Kole et al., 2008). Il a aussi été souligné que cette densité n'était pas suffisante pour expliquer l'initiation au SIA. Cette forte densité est en effet observée sur tout le SIA et pourtant les PA ne sont initiés que dans la partie distale (la plus éloignée du soma). Hu et al. (2009) ont mis en évidence

dans les neurones pyramidaux du cortex préfrontal que deux types de canaux Nav sont exprimés au SIA, Nav1.2 et Nav1.6, avec des densités comparables. Plus précisément, Nav1.2 est exprimé majoritairement dans la partie proximale alors que Nav1.6 est exprimé majoritairement dans la partie distale. Or, il s'avère que Nav1.6 a un seuil d'activation plus bas que Nav1.2, expliquant ainsi l'initiation des PA dans la zone distale. Néanmoins, cette hypothèse de forte densité au SIA a été remise en question dans une étude très récente (Fleidervish et al., 2010; Johnston, 2010). En filmant avec une caméra ultra-rapide le flux d'ions  $\text{Na}^+$  lors de la génération de PA grâce à une technique de fluorescence, Fleidervish et al. (2010) ont pu estimer la densité de canaux Nav réellement impliqués dans ce processus. De façon étonnante, leurs observations les ont amenées à conclure que la densité de canaux Nav fonctionnels au SIA n'est que 3 fois supérieure à celle au soma. Les auteurs suggèrent alors que le niveau plus bas du seuil au SIA pourrait s'expliquer par la présence de canaux Nav ne s'inactivant pas au SIA (lié au courant  $I_{\text{Na},P}$ ) et non au soma.

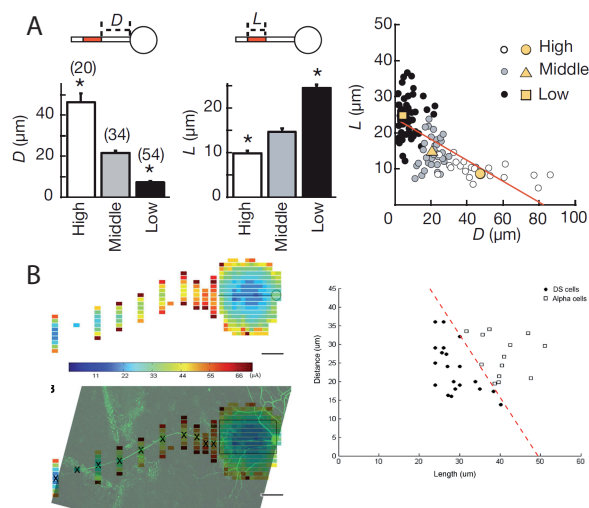


FIGURE 3.4 – Régulation de la densité des canaux Nav. Dans les neurones du noyau laminaire (impliqués dans la localisation des sources sonores) et dans les neurones ganglionnaires de la rétine, les canaux Nav sont exprimés sur une bande le long de l'axone. Cette bande est caractérisée par une longueur  $L$  et une distance au soma  $D$ . A. Kuba et al. (2006) ont mis en évidence que ces caractéristiques sont différentes d'un type cellulaire à l'autre, pour les neurones du noyau laminaire. "High", "Middle", "Low" représentent les fréquences auxquelles ces neurones peuvent être sensibles. Pour chaque gamme de fréquences, il existe un type cellulaire associé. Il s'avère que  $L$  et  $D$  sont négativement corrélés pour ces différents types cellulaires. (Extrait de Kuba et al. (2006)) B. Caractérisation de cette bande à partir d'une mesure extracellulaire du seuil, dans les neurones ganglionnaires de la rétine. Fried et al. (2009) ont mis en évidence qu'il était possible de séparer assez nettement les caractéristiques des bandes Na, pour les cellules  $\alpha$  et sélectives à la direction (DS). (Extrait de Fried et al. (2009))

Dans certains neurones sensoriels, pour lesquels les axones sont non-myélinisés, il a été observé que les canaux Nav présentent une expression différentielle le long de l'axone selon le type cellulaire. Par exemple, pour les neurones du noyau laminaris, spécialisés dans la localisation de sources sonores, Kuba et al. (2006) ont observé que la longueur et la distance au soma de la bande de canaux Nav étaient invariantes pour un même type cellulaire et variaient d'un type cellulaire à l'autre, la longueur étant inversement proportionnelle à la distance (cf. Fig. 3.4). Ces types, au nombre de trois, ont été déterminés uniquement à partir de la réponse de ces neurones aux fréquences du son (basses, moyennes et hautes fréquences). Les auteurs affirment que ces différences de distribution pourraient jouer un rôle dans les propriétés de détection de coïncidences respectives de chaque type cellulaire. Par ailleurs, une observation similaire a été faite pour les neurones ganglionnaires de la rétine par Fried et al. (2009). Les auteurs ont en effet observé que les caractéristiques de la bande de canaux Nav dépendaient du type cellulaire. Plus précisément, ils ont observé que la longueur et la distance au soma de ces bandes vérifiaient des contraintes différentes pour les cellules  $\alpha$  et les cellules sélectives à la direction (DS) (cf. Fig. 3.4). Il peut être noté que : les cellules  $\alpha$  déchargent intensément lorsque le stimulus visuel est situé à une position donnée dans l'espace ; les cellules DS déchargent intensément lorsque le stimulus est une barre translatée dans une direction donnée. Ces cellules codant les stimuli externes via la fréquence de décharge, contrairement à l'étude de Kuba et al. (2006), les auteurs suggèrent que ces contraintes sur les bandes d'expression joueraient un rôle dans le codage fréquentiel.

Nous pouvons mentionner que l'étude de la structure moléculaire du SIA fait l'objet de très nombreuses recherches. Si l'ensemble des composants moléculaires de ce SIA sont à priori bien connus, les mécanismes expliquant cette forte densité font l'objet de nombreuses recherches (Bennett and Chen, 2001; Poliak and Peles, 2003; Ogawa and Rasband, 2008; Rasband, 2008, 2010).

Nous pouvons aussi mentionner qu'il existe de nombreuses recherches portant sur l'évolution naturelle de l'excitabilité des neurones et notamment sur l'apparition de l'aggrégation de canaux Nav au SIA. Il s'avère en effet que pour les insectes, les vers et les organismes non-chordés<sup>1</sup> l'axone est non-myélinisé, la densité en canaux Nav au SIA n'est pas plus élevée que dans le reste du neurone et les PA peuvent donc être initiés à différents endroits de l'axone (Hill et al., 2008). De façon intéressante, Hill et al. (2008) ont observé à partir d'une analyse génomique et biochimique pour les chordés primitifs, que l'aggrégation des canaux Nav au SIA est apparue plus tôt dans l'évolution que la myéline et le noeud de Ranvier. Ils ont aussi observé que l'aggrégation des canaux Kv au SIA est apparu plus tard, à la même période que la myéline et la conduction saltatrice. Cette étude suggère que l'initiation des PA au SIA a peut-être été une étape importante dans l'évolution du système nerveux.

---

1. Les chordés sont un embranchement des métazoaires supérieurs, ils possèdent un système nerveux en forme de tube appelé chorde. Les vertébrés appartiennent à l'embranchement des chordés.

## 3.2 Mécanismes d'ouverture

### Contrôle de l'ouverture par le voltage

Dans le modèle HH standard, la dépendance des taux de transition au voltage n'a pas une signification physique immédiate. En effet, si on considère par exemple le canal K, l'expression de  $n$  à l'équilibre pour le modèle de Mainen et al. (1995) (cf. 1.6) est :

$$n_{\infty}(V) = \frac{1 + e^{(V-V_{1/2})/k}}{a + b \cosh\left(\frac{V-V_{1/2}}{k}\right)}$$

en ayant noté  $a = 1 + B/A$ ,  $b = 2(1 - B/A)$ ,  $V_{1/2} = V_a = V_b$  et  $k = k_a = k_b$ . Cela ne traduit pas à priori les mécanismes ioniques en jeu. Nous allons voir dans ce paragraphe la forme que devrait avoir ce terme lorsque les mécanismes d'ouverture des canaux sont pris en compte. Il est intéressant toutefois de faire remarquer que l'analyse que nous allons présenter avait été évoquée par Hodgkin et Huxley dans leur article fondateur.

Considérons un ensemble de canaux ioniques ne pouvant être que dans les états ouvert ou fermé. La transition de l'état fermé à ouvert :

$$(\text{fermé}) \rightleftharpoons (\text{ouvert})$$

implique un changement de conformation de la protéine, contrôlé par le potentiel membranaire. A l'équilibre, le ratio du nombre de canaux ouverts, noté  $O$ , sur le nombre de canaux fermés, noté  $C$ , est donné en fonction de l'énergie associée au changement de conformation par :

$$\frac{O}{C} = e^{-\frac{U_O - U_C}{k_B T}}$$

où  $U_O - U_C$  est l'énergie nécessaire pour ouvrir le canal. L'ouverture des canaux étant contrôlée par le voltage, cette énergie de transition est essentiellement une énergie électrique. Elle sera ainsi dépendante de  $V$  et peut être exprimée au premier ordre par :

$$U_O - U_C \sim a + bV$$

Cette approximation sera valide dans la limite où les voltages imposés à la membrane sont suffisamment faibles. Le terme constant  $a$  est l'énergie associée au changement de conformation du canal en l'absence de champ électrique et le terme du premier ordre  $b$  est l'énergie à fournir pour

#### Loi de Boltzmann

Considérons une particule pouvant être dans les états 1 et 2 associés respectivement aux énergies  $U_1$  et  $U_2$ . Si on suppose que les énergies de la particule sont distribuées selon une loi de Boltzmann à l'équilibre, les probabilités relatives de trouver la particule dans l'état 1 ou 2 sont données par :

$$\frac{p_2}{p_1} = e^{-\frac{U_2 - U_1}{k_B T}}$$

où  $k_B$  est la constante de Boltzmann et  $T$  est la température absolue en Kelvin. Qualitativement, cela signifie qu'à l'équilibre, la particule passe moins de temps dans les états de hautes énergies que dans ceux de basses énergies.

translater des charges indépendantes ou mettre en rotation des dipôles rigides, nécessaires à l'ouverture du canal (Destexhe et al., 1994). Il peut être noté qu'un grand nombre de mécanismes ont été proposés pour le contrôle de l'ouverture des canaux par le potentiel, mais qu'il n'y a pas encore de consensus (Hille, 2001). La fraction de canaux ouverts à l'équilibre peut donc être exprimée en fonction du voltage par :

$$\frac{O}{O+C} = \frac{1}{1 + e^{-\frac{a+bV}{k_B T}}} = \frac{1}{1 + e^{-\frac{V-V_{1/2}}{k}}} \quad (3.1)$$

En somme, avec les hypothèses faites, la courbe représentant  $\frac{O}{O+C}(V)$  est une sigmoïde de voltage à mi-hauteur  $V_{1/2} = -a/b$  et de facteur de pente  $k = k_B T/b$  ( $\frac{d}{dV} \frac{O}{O+C}(V_{1/2}) = \frac{1}{4k}$ ). La fonction associée à cette sigmoïde est appelée fonction de Boltzmann. Il est intéressant de considérer l'interprétation physique de ces paramètres :  $V_{1/2}$  correspond grossièrement au rapport de l'énergie de conformation en l'absence de champ électrique sur l'énergie de conformation électrique (pour une dépolarisation unitaire) ;  $k$  correspond grossièrement au rapport de l'énergie d'agitation thermique sur l'énergie de conformation électrique (pour une dépolarisation unitaire).

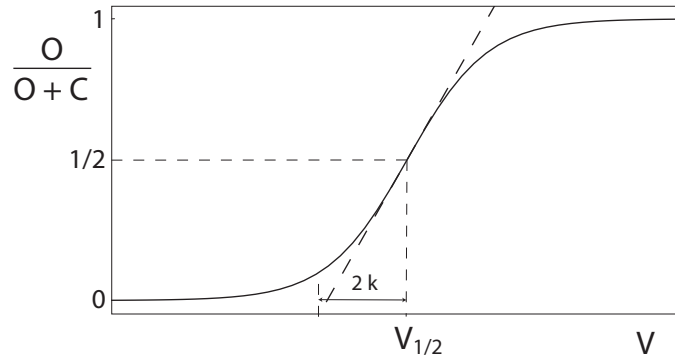


FIGURE 3.5 – Fonction de Boltzmann. La fonction de Boltzmann est une description appropriée pour la dépendance en voltage de la fraction à l'équilibre de canaux ouverts  $\frac{O}{O+C}$ , si la transition entre canal ouvert et fermé est élémentaire.  $V_{1/2}$  représente le voltage à mi-hauteur et  $k$  le facteur de pente de la sigmoïde.

Nous pouvons considérer de nouveau le canal potassium. Dans le cadre du modèle HH, quatre portes indépendantes dites d'activation contrôlent l'ouverture du canal. Chacune de ces portes peut être soit dans l'état de repos, soit dans l'état activé. Le canal sera ouvert uniquement si ces quatre portes sont simultanément activées. Le raisonnement précédent et l'hypothèse faite sur le mécanisme d'ouverture permettent de déterminer la dépendance au voltage de la variable  $n$  à l'équilibre :

$$n_{\infty}(V) = \frac{1}{1 + e^{-\frac{V-V_{1/2}}{k}}} \quad (3.2)$$

Cette expression est plus directement reliée aux mécanismes biophysiques sous-tendant l'ouverture des canaux. Nos analyses reposent en grande partie sur l'approximation que les courbes d'activation et d'inactivation du courant Na ( $m_\infty(V)^3$  et  $h_\infty(V)$  dans le modèle HH) sont bien décrites par des fonctions de Boltzmann. Si on considère de nouveau le canal K et que l'on détermine sa courbe d'activation à partir du raisonnement précédent, nous obtenons :

$$n_\infty^4(V) = \left( \frac{1}{1 + e^{-\frac{V-V_{1/2}}{k}}} \right)^4 \quad (3.3)$$

étant donné l'indépendance entre les portes. Cela n'apporte donc pas de justification directe à l'ajustement par une fonction de Boltzmann. Néanmoins, pour nos études, une validation empirique de cette description suffit.

### La séparation des temps caractéristiques

Malgré l'approximation couramment faite que le temps caractéristique de l'inactivation est bien supérieur à celui de l'activation (Koch, 1999), il est relativement difficile de trouver des mesures, pour une même cellule, de ces deux temps caractéristiques (Angelino and Brenner, 2007). Néanmoins, il existe quelques études sur ce sujet. Nous en avons récapitulé les valeurs mesurées dans le Tableau 3.2. Ces études ayant mesuré la dépendance au voltage de ces temps caractéristiques, nous avons uniquement conservé le maximum de ces dépendances. Il est à noter que les mesures de ces temps ne peuvent se faire que dans le cadre d'un modèle cinétique de canal. Pour la majorité de ces mesures, le modèle HH constituait le cadre théorique utilisé. Il est aussi important de noter les valeurs exactes de ces temps sont très sensibles à la température ambiante.

A la lecture du tableau, il apparaît que le temps caractéristique de l'activation est bien inférieur à l'ordre de grandeur usuel de la constante de temps membranaire au repos ( $\tau \approx 20\text{ms}$ ) et inférieur à celui dans les états de haute-conductance ( $\tau \approx 5\text{ms}$ ). Cela justifie l'approximation couramment faite que l'activation est un processus instantané à l'échelle de l'intégration synaptique (Koch, 1999). Lorsque les temps caractéristiques de l'activation, noté  $\tau_m$ , et de l'inactivation, noté  $\tau_h$ , sont donnés, nous pouvons constater que  $\tau_h$  est bien supérieur à  $\tau_m$  ( $\tau_i \approx 10 - 100\tau_a$ ). Néanmoins, les valeurs très importantes de  $\tau_h$  suggèrent que c'est en fait l'inactivation lente qui a été mesurée (de  $I_{Na,S}$ ). Enfin, certaines mesures donnent des constantes de temps d'inactivation très petites, de l'ordre ou inférieure à la constante de temps membranaire.

Par ailleurs, il est intéressant de considérer les études faites en "patch-clamp" dans des ovocytes de *Xenopus*, où un seul type de canal Nav est exprimé. Plus précisément, nous pouvons considérer celles portant spécifiquement sur le canal Nav1.6, supposé être responsable de l'initiation des PA dans les neurones centraux (cf. 3.1). Dans ces études, les mesures donnent des constantes de temps d'inactivation rapide très petite, de l'ordre de la milliseconde (Smith et al., 1998; Zhou and Goldin, 2004; Rush et al., 2005).

En résumé, nous avons essayé de faire une synthèse des mesures des constantes de temps d'activation et d'inactivation. Il faut reconnaître que, malgré les hypothèses courantes en neurophysiologie sur ces constantes de temps, il existe peu d'études ayant mesuré  $\tau_m$  et  $\tau_h$  pour une même cellule. Nous avons vu que l'hypothèse courante d'activation instantanée est confirmée par les mesures. De plus, nous avons vu que l'inactivation peut être très rapide et que sa constante de temps est de l'ordre de la constante de temps membranaire  $\tau$ , contrairement à l'hypothèse couramment faite que  $\tau_h \gg \tau$  (Koch, 1999).

Auteurs	$\tau_m$ (ms)	$\tau_h$ (ms)	T (°C)	Neurone	Aire
Huguenard et al. (1988)	0.4	5 <sup>2</sup>	23	pyramidal	néocortex
Martina and Jonas (1997)	0.2	2	23	interneurones	hippocampe
- <sup>3</sup>	0.2	2	-	pyramidal	-
He et al. (2002)	X	4	24	en culture	hippocampe
Leão et al. (2005)	X	2	24		calyx du Held
-	-	0.5	35	-	
-	-	1.5	24		brainstem auditif
Baranauskas and Martina (2006)	1	80	12	pyramidal	cortex préfrontal
-	0.3	35	23	-	-
Mercer et al. (2007)	0.3	30	22	à décharge régulière et rapide	globus pallidus
Kuba and Ohmori (2009)	X	3	20	relai auditif	nucleus magnocellularis
Scott et al. (2010)	X	3	35	principal	olive supérieure

### L'inactivation n'est pas indépendante de l'activation

Le modèle HH repose principalement sur l'hypothèse d'indépendance entre activation et inactivation du courant Na (cf. 1.2). Or, il a été clairement montré par de nombreux travaux biophysiques que cette hypothèse n'est pas valide à l'échelle du

2. Composante lente de  $\tau_h$ .

3. - : même information qu'à la ligne précédente.



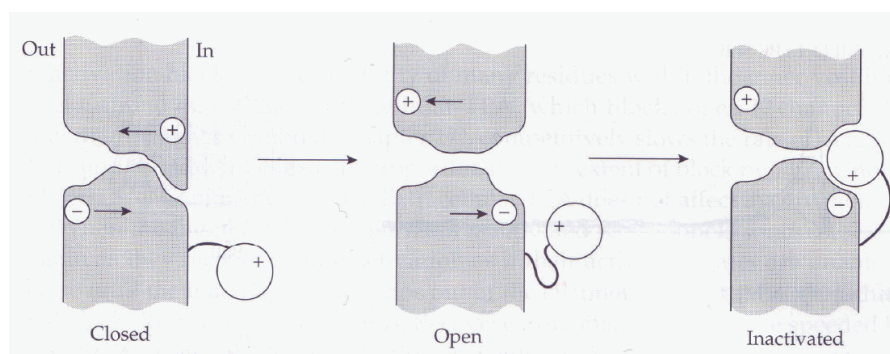


FIGURE 3.6 – Modèle d'inactivation "boule-et-chaîne". L'activation du canal induit un déplacement de charges intra-membranaires. A l'ouverture du canal, cela crée un réceptacle chargé négativement au niveau de la surface intra-cellulaire de la membrane. La particule d'inactivation, modélisée par une boule chargée positivement et attachée par une chaîne à la membrane cellulaire, est alors attirée vers le réceptacle, refermant ainsi le canal. (Extrait de Hille (2001))

canal unique (Hille, 2001). La première étude ayant clairement mis en évidence de point a été réalisée par Armstrong et Bezanilla en 1977 (Bezanilla and Armstrong, 1977; Armstrong and Bezanilla, 1977). Ils ont réalisé une expérience similaire à celle de Hodgkin et Huxley, en utilisant la technique du voltage imposé dans l'axone du calamar. Néanmoins, contrairement à l'expérience originale, ils ont effectué une suppression sélective de l'inactivation grâce à une enzyme (l'enzyme pronase). Cela leur a permis d'observer que l'inactivation ne peut intervenir qu'après l'activation et qu'elle est indépendante du voltage. Ils ont alors proposé un nouveau mécanisme pour l'ouverture du canal Nav, rendant compte du couplage observé entre activation et inactivation. Ce mécanisme, dont le schéma est représenté Figure 3.6, est appelé modèle "boule-et-chaîne". Dans ce modèle, l'activation du canal est accompagnée d'un déplacement intra-membranaire de charges, induisant à la fois l'ouverture du canal et une charge négative pour le réceptacle créé à la surface intra-cellulaire de la membrane. Par ailleurs, l'inactivation est modélisée par une boule de charge positive située dans le milieu intracellulaire et retenue à la membrane par un filament. Lorsque le canal s'active, la boule, attirée par les charges négatives, se loge dans le réceptacle, provoquant ainsi le blocage du flux ionique à travers le canal. Nous voyons bien dans ce modèle mécanistique, que l'inactivation ne peut pas se produire avant l'activation. Quant à l'indépendance du processus d'inactivation relativement au voltage, une hypothèse doit être ajoutée : l'inactivation est beaucoup plus rapide que l'activation. L'apparente dépendance en voltage de l'inactivation reflèterait ainsi celle de l'activation (Hille, 2001). De nombreuses expériences ont confirmé par la suite la plausibilité de ce modèle (Hille, 2001). L'expérience la plus frappante est celle où la longueur de la "chaîne" a été modifiée (Hoshi et al., 1990; Zagotta et al., 1990). Brièvement, cette expérience consistait à éliminer ou ajouter des acides aminés à la structure du canal K Shaker type A, approprié pour la compréhension de

l'inactivation du canal Nav<sup>4</sup>. Lorsque la séquence était rallongée, l'inactivation était ralentie et inversement lorsqu'elle était raccourcie. Enfin, lorsqu'une zone précise de la séquence était éliminée, l'inactivation disparaissait. Autrement dit, du point de vue moléculaire, la "chaîne" et la "boule" du modèle d'Armstrong et Bezanilla correspondraient chacun à une région de la séquence d'acides aminés du canal.

Par la suite, de nombreuses expériences ont été réalisées et de nombreux modèles ont été proposés pour invalider l'hypothèse d'indépendance (Aldrich, 2001; Hille, 2001; Bean, 2007). Nous pouvons citer notamment une étude récente réalisée par Gurkiewicz and Korngreen (2007) dans les neurones pyramidaux du cortex somato-sensoriel. Elle consistait à analyser un grand nombre d'enregistrements réalisés en "patch-clamp" avec des stimulations de type voltage imposé. Les auteurs ont ensuite optimisé les paramètres de différents modèles cinétiques de canaux, dont le modèle HH classique et des modèles supposant un couplage activation-inactivation, pour reproduire les résultats expérimentaux. Cette étude leur a permis de constater que le modèle HH est moins performant pour interpoler l'ensemble des données, que des modèles tenant compte du couplage activation-inactivation.

Cependant, si l'hypothèse d'indépendance formulée par Hodgkin et Huxley s'est révélée invalide, la conséquence du couplage sur la réponse des neurones n'a pas été clairement établie. Plus précisément, l'expression de la conductance Na ( $g_{Na}$ ) en fonction des variables d'activation ( $m$ ) et d'inactivation ( $h$ ) dans les équations HH (cf. ) est considérée comme valide ( $g_{Na} = \bar{g}_{Na} m^3 h$ )

### Hypothèse de coopération des canaux sodium

Une autre hypothèse moléculaire fondamentale implicite au modèle HH est l'indépendance entre les canaux ioniques voltage-dépendants. Du point de vue mathématique, cette hypothèse permet de rendre plus simple le passage entre la description de l'ouverture d'un canal unique et la description de la dynamique des conductances (Fox and Lu, 1994; Chow and White, 1996; Fox, 1997). Cependant, il a été récemment proposé par Naundorf et al. (2006) que cette hypothèse n'est pas valide pour les neurones corticaux. La principale motivation de cette étude concernait le problème du codage des signaux rapides par ces neurones et plus précisément l'influence du mécanisme de génération de PA sur ce codage (Fourcaud-Trocmé et al., 2003). Pour prouver la non-validité de cette hypothèse, les auteurs ont à la fois réalisé des mesures des paramètres d'initiation des PA à partir d'enregistrements *in vivo* et de simulations numériques d'un modèle HH de neurone cortical. Ils ont mis en évidence pour les neurones corticaux que les deux caractéristiques suivantes étaient toujours observées conjointement : une variabilité substantielle du seuil (cf. 2.4) et une vitesse de montée très rapide des PA (cf. Fig. 2.12). Les auteurs ont ensuite simulé un modèle HH ponctuel<sup>5</sup> standard de neurone cortical soumis à des conductances fluctuantes (cf. 2.2). Ils ont montré que les résultats de leurs simulations ne

4. Le canal K Shaker type A s'inactive rapidement contrairement au canal K rectifiant-retardé ("delayed-rectifier") du modèle HH. En notation moderne, ce canal est noté Kv1.4.

5. Les variables d'un tel modèle ne présentent pas de variation spatiale (cf. Eq. 1.2).

permettaient pas de rendre compte du phénomène observé pour l'initiation des PA : ce modèle peut soit donner une grande variabilité du seuil, soit une montée rapide des PA, mais non les deux conjointement. Cela les a motivé à développer un modèle alternatif d'excitabilité neuronale. Dans le modèle proposé, une interaction entre les canaux voisins spatialement est prise en compte.

Nous n'allons pas présenter les détails de ce modèle. Néanmoins, nous pouvons en donner les ingrédients clés. Dans ce modèle, la courbe d'activation de chaque canal Nav ( $m_\infty^3(V)$ ) n'est plus statique, mais dépend du nombre de canaux proches voisins ouverts (cf. Fig. 3.7). Les auteurs expliquent que cela revient à considérer des canaux indépendants couplés via la fraction de canaux ouverts.

Cependant, la plausibilité d'un tel modèle a été mise en doute par différents auteurs (Bean, 2007; McCormick et al., 2007; Yu et al., 2008; Colwell and Brenner, 2009; Hu et al., 2009). Le principal argument opposé à ce modèle est basé simplement sur des considérations électrophysiologiques. Comme nous l'avons vu au chapitre 2 (cf. 2.4), McCormick et al. (2007); Yu et al. (2008) ont rappelé et confirmé que les PA sont initiés au SIA. Ils ont alors montré que la mesure du seuil au soma permet bien d'observer le phénomène mis en évidence par Naundorf et al. (2006). Cela a été réalisé par des enregistrements simultanés au soma et au SIA et des simulations numériques dans des modèles HH multi-compartimentaux. De façon qualitative, la variabilité du seuil s'explique par le

fait que le seuil mesuré au soma n'est pas réellement un seuil mais une image du seuil réel à l'axone, induite par la rétro-propagation (cf. Fig. 2.13). La montée abrupte des PA s'explique par le fait que les canaux Nav entre le soma et l'axone accélèrent la dépolarisation durant la rétro-propagation du PA. En somme, ils ont invalidé l'hypothèse de coopération en montrant simplement que l'hypothèse HH d'indépendance n'empêche pas d'observer les caractéristiques mentionnées de l'initiation des PA. Par ailleurs, nous avons mentionné au chapitre 2, l'étude théorique de Colwell and Brenner (2009) (cf. 2.4). Même si les auteurs n'ont pas abordé directement le problème soulevé par Naundorf et al. (2006), ils ont en fait montré qu'il est possible d'obtenir à la fois un seuil variable et une montée rapide pour un modèle HH ponctuel, en réglant judicieusement les paramètres de la statistique des conductances d'entrée (cf. 2.2 et Fig. 2.18). Comme nous l'avons évoqué au chapitre 2, cela est essentiellement lié à la mesure empirique du seuil.

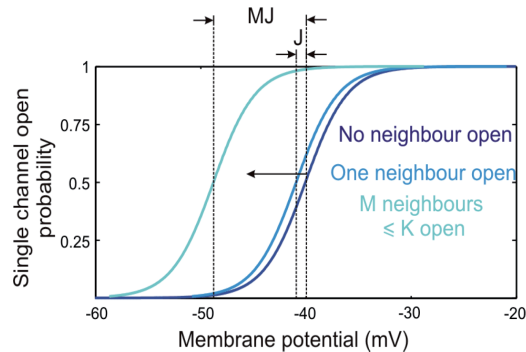


FIGURE 3.7 – Modèle de coopération des canaux proposé par Naundorf et al. (2006). Dans ce modèle, la courbe d'activation de chaque canal Nav est supposée pouvoir être translatée horizontalement d'un décalage dépendant du nombre de ses canaux proches voisins ouverts. (Extrait de Naundorf et al. (2006))

Un second argument opposé à ce modèle a été proposé par Hu et al. (2009) et est basé sur l'étude des courbes d'activation des courants Na dans des bourgeonnements d'axone isolés. Dans une première expérience, un anesthésiant (la tétrodotoxine ou TTX) a été appliqué, faisant diminuer la densité en canaux Nav. Dans une seconde expérience, l'amplitude du courant a été réduite tout en laissant inchanger la densité en canaux grâce à un liquide céphalo-rachidien artificiel appauvri en  $\text{Na}^+$ . Les auteurs de cette étude ont alors mesuré que le voltage à mi-hauteur des courbes d'activation était constant quelque soit la condition expérimentale. De ce résultat, les auteurs en concluent que la coopérativité des canaux ne peut expliquer le seuil d'activation plus hyperpolarisé des canaux Nav axonaux qu'ils ont observé. Cela renforce la non validité de l'hypothèse de coopération des canaux Nav.

Ainsi, il apparaît que la révision des fondements du modèle HH proposé par Naundorf et al. (2006) n'est pas à priori nécessaire. Néanmoins, la controverse suscitée par leur étude a souligné deux points particulièrement intéressants : l'importance de la prise en compte des variations spatiales pour bien décrire le phénomène d'initiation des PA ; la sensibilité des paramètres d'initiation aux méthodes de mesure.

### 3.3 Le seuil d'excitabilité comme phénotype

#### Contraintes d'excitabilité

Nous venons de voir un lien entre les caractéristiques d'activation du canal Nav et le seuil d'excitabilité, à partir du passage théorique d'un modèle de canal à un modèle de membrane. Nous avons insisté sur les conséquences des fluctuations de l'activation sur celles du potentiel. Néanmoins, la démarche inverse est possible, en cherchant les conséquences d'un seuil d'excitabilité sur les caractéristiques de l'activation. C'est la démarche adoptée par Angelino and Brenner (2007) pour étudier les canaux Nav. Plus précisément, leur étude est motivée par le paradoxe suivant : les canaux Nav présentent à la fois une grande similarité dans leur structure moléculaire et une grande variabilité dans leurs caractéristiques électrophysiologiques. En effet, comme nous l'avons mentionné, leur séquence en acide aminé est similaire à plus de 75% (cf. 3.1), alors que le voltage à mi-hauteur de leur courbe d'activation est compris d'après Angelino and Brenner (2007) dans une plage d'au moins 80 mV (cf. 3.8, à comparer avec  $E_{\text{Na}} - E_L \approx 120$  mV). Pour aborder ce paradoxe, ils ont cherché à déterminer les plages de valeurs physiologiques pour les paramètres d'activation. Plus précisément, ils ont cherché les conditions sur les paramètres d'activation pour avoir une cellule excitable, c'est-à-dire présentant un seuil d'excitabilité.

Sans donner les détails techniques de leur analyse mathématique, nous pouvons résumer leur démarche. Ils ont considéré une équation HH uni-dimensionnelle, de forme identique à celle présentée au chapitre 1 (cf. Eq. 1.10). Nous rappelons que dans cette équation l'activation est supposée instantanée et les autres variables ioniques ( $h$  et  $n$ ) sont négligées. De plus, la courbe d'activation est considérée bien décrite

par une fonction de Boltzmann :

$$m_{\infty}^3(V) = \frac{1}{1 + e^{-\frac{V-V_a}{k_a}}} \quad (3.4)$$

où  $V_a$  et  $k_a$  sont respectivement le voltage à mi-hauteur et le facteur de pente de cette courbe. Les auteurs font remarquer que pour des valeurs données des paramètres d'activation,  $(V_a, k_a)$ , la cellule peut présenter ou non un seuil d'excitabilité selon la valeur du ratio de conductances  $\bar{g}_{Na}/g_L$ . En effet, pour une valeur suffisamment faible de ce ratio, le courant de fuite prédomine sur le courant Na et la cellule n'est alors plus excitable.

Etudiant spécifiquement les caractéristiques du canal Nav, ils ont cherché uniquement les conditions sur  $(V_a, k_a)$  pour obtenir un seuil. Afin de s'abstraire de l'influence de  $\bar{g}_{Na}/g_L$ , leur problème mathématique revenait à déterminer l'ensemble des valeurs du couple  $(V_a, k_a)$  tel qu'aucune valeur du ratio de conductances ne permette l'existence d'un seuil d'excitabilité. Par contraposée, cela donne l'ensemble des valeurs de  $(V_a, k_a)$  pour lesquelles la cellule-modèle peut être excitable.

De façon intéressante, ils ont obtenu une condition analytique très simple sur ces paramètres :

$$V_a > E_L + 2k_a$$

pour que la cellule puisse être excitable. Nous pouvons visualiser Figure 3.8 la représentation géométrique associée à cette condition d'excitabilité. De plus, les auteurs ont validé leur prédiction théorique avec un jeu de données constitué à partir de la littérature (cf. Figure 3.8). Plus précisément, ces données proviennent de mesures en "patch-clamp" dans des ovocytes de Xenope en général, où un type donné de canal Nav a été exprimé.

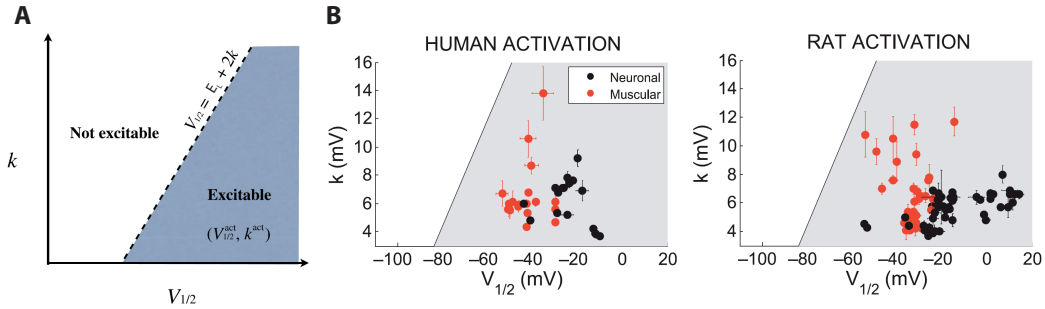


FIGURE 3.8 – Contraintes d'excitabilité. A. Condition d'excitabilité sur les paramètres d'activation du canal Nav établie par Angelino and Brenner (2007). B. Ces conditions sont bien vérifiées par les données collectées par Angelino and Brenner (2007), correspondant à des mesures pour les différents types de canaux Nav. (Adapté de Angelino and Brenner (2007))

Cette étude originale suggère plusieurs directions théoriques possibles : l'étude de la diversité phylogénétique du canal Nav ; la recherche de contraintes sur les

paramètres des équations HH ; l'étude de la relation entre phénotype des canaux Nav et propriétés de l'excitabilité. Bien qu'éloignée de nos premières motivations, cette étude a influencé fortement la direction de nos recherches. Nous avons ainsi proposé une relation mathématique explicite entre le seuil et les caractéristiques d'activation dans la première étude. Nous avons abordé la question des contraintes sur les paramètres d'inactivation pour observer un seuil dynamique, dans la seconde étude.

### Plasticité de l'excitabilité intrinsèque

De très nombreuses expériences ont mis en évidence des phénomènes de plasticité de l'excitabilité neuronale analogues à ceux observés pour l'activité synaptique (Spitzer et al., 2002; Daoudal and Debanne, 2003; Zhang et al., 2004; Schulz, 2006). Nous ne présenterons pas ce très vaste sujet, mais nous pouvons mentionner que ces expériences ont mis en évidence des variations à long terme du seuil d'excitabilité. Ces variations peuvent avoir lieu durant le développement du système nerveux ou dans le système nerveux mature, suite à des modifications dans les entrées synaptiques sur diverses échelles de temps. De façon intéressante, ces variations peuvent s'effectuer dans le sens d'une régulation de l'activité (Desai, 2003; Turrigiano and Nelson, 2004; Marder and Goaillard, 2006; Davis, 2006) ou être le substrat de phénomènes d'apprentissage ou de mémoire (Daoudal and Debanne, 2003; Zhang and Linden, 2003). Bien que nous n'ayons pas abordé ce sujet, il est intéressant de le considérer dans le cadre des prédictions pour le seuil que nous avons proposé dans la première étude.

Plus spécifiquement, des études très récentes ont mis en évidence une nouvelle forme de plasticité de l'excitabilité intrinsèque, ayant lieu précisément au niveau du SIA (Gründemann and Häusser, 2010; Grubb and Burrone, 2010; Kuba et al., 2010) (cf. Figure 3.9). Grubb and Burrone (2010) ont montré, dans des cellules hippocampales en culture, que le SIA s'éloignait du soma lorsque la cellule était artificiellement dépolarisée de façon chronique et revenait à sa position initiale autrement, la longueur du SIA restant fixe. Ils ont de plus confirmé que la distance du SIA au soma était corrélée avec le seuil : plus cette distance était grande, plus le seuil de courant était élevé rendant la probabilité de décharge plus faible. Kuba et al. (2010) ont réalisé une expérience similaire dans les conditions *in vivo*, dans des neurones du tronc cérébral auditif. Ils ont étudié la forme du SIA après avoir privé des poussins de signaux auditifs en leur ayant retiré la cochlée un jour après l'éclosion. Ils ont observé dans ces conditions que le SIA s'allongeait de 70% sans que sa distance au soma variait. De façon intéressante, la densité en canaux Nav restaient invariantes rendant le pic du courant sodium 1,5 fois plus grand. Ils ont de plus mesuré que le seuil de potentiel diminuait de 4 mV et le seuil de courant de 30% correspondant à une augmentation de l'excitabilité des neurones. Nous pouvons noter que ces deux études ont mis en évidence phénomène de compensation ou régulation de l'excitabilité, appelé plasticité homéostatique. Selon les auteurs, cette forme de plasticité pourrait être particulièrement efficace dans la mesure où elle a lieu directement au

site d'initiation des PA.

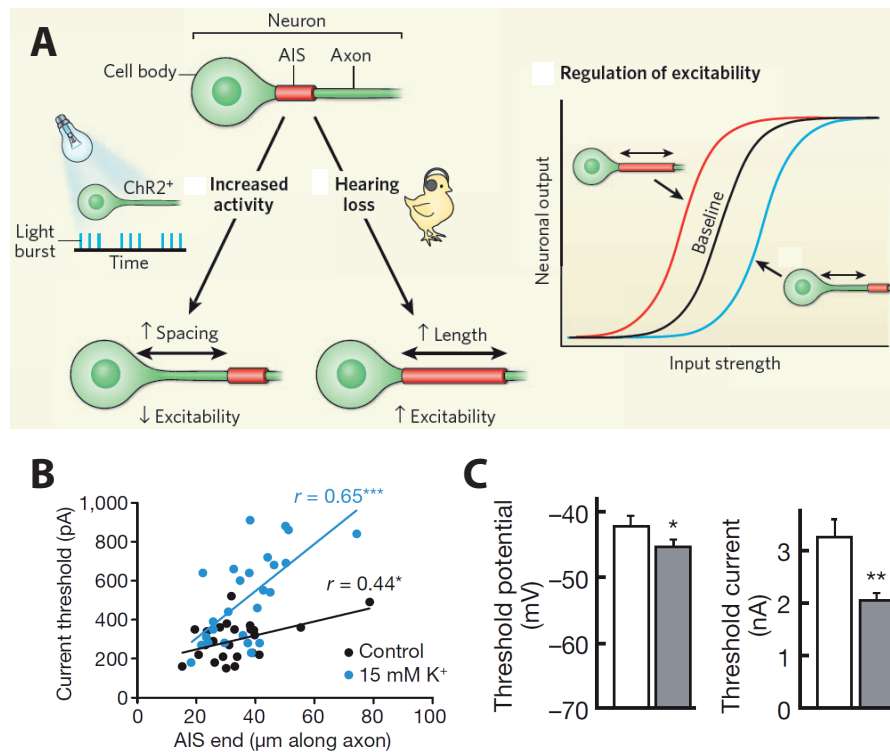


FIGURE 3.9 – Plasticité du segment initial de l'axone. A. Résumé des études de Grubb and Burrone (2010) et Kuba et al. (2010). (A gauche) Dans des cellules en culture de l'hippocampe, le SIA peut s'éloigner du soma suite à une dépolarisation prolongée, pouvant être contrôlée par un signal lumineux activant le canal ionique  $\text{ChR2}^+$ . Dans les neurones du tronc cérébral auditif, le SIA s'allonge lorsque des poussins sont privés de signaux auditifs. (A droite) L'allongement (resp. l'éloignement au soma) du SIA induit une augmentation (resp. une diminution) de l'excitabilité du neurone, ce qui implique une régulation de sa relation entrée-sortie. (Adapté de Gründemann and Häusser (2010)) B. Dans la condition de dépolarisation chronique (en bleu), l'augmentation du seuil de courant avec la distance SIA-soma est d'autant plus prononcée. (Extrait de Grubb and Burrone (2010)) C. Dans le cas où les poussins ont été privés de signaux auditifs (en gris), les seuils de potentiel et de courant diminuent. Les rectangles blancs correspondent à la condition contrôle. (Extrait de Kuba et al. (2010))

CHAPITRE 4

# Résultats

---

## 4.1 Une équation seuil pour l'initiation des potentiels d'action





# A Threshold Equation for Action Potential Initiation

Jonathan Platkiewicz<sup>1,2</sup>, Romain Brette<sup>1,2\*</sup>

**1** Laboratoire Psychologie de la Perception, CNRS and Université Paris Descartes, Paris, France, **2** Département d'Etudes Cognitives, Ecole Normale Supérieure, Paris, France

## Abstract

In central neurons, the threshold for spike initiation can depend on the stimulus and varies between cells and between recording sites in a given cell, but it is unclear what mechanisms underlie this variability. Properties of ionic channels are likely to play a role in threshold modulation. We examined in models the influence of Na channel activation, inactivation, slow voltage-gated channels and synaptic conductances on spike threshold. We propose a threshold equation which quantifies the contribution of all these mechanisms. It provides an instantaneous time-varying value of the threshold, which applies to neurons with fluctuating inputs. We deduce a differential equation for the threshold, similar to the equations of gating variables in the Hodgkin-Huxley formalism, which describes how the spike threshold varies with the membrane potential, depending on channel properties. We find that spike threshold depends logarithmically on Na channel density, and that Na channel inactivation and K channels can dynamically modulate it in an adaptive way: the threshold increases with membrane potential and after every action potential. Our equation was validated with simulations of a previously published multicompartmental model of spike initiation. Finally, we observed that threshold variability in models depends crucially on the shape of the Na activation function near spike initiation (about  $-55$  mV), while its parameters are adjusted near half-activation voltage (about  $-30$  mV), which might explain why many models exhibit little threshold variability, contrary to experimental observations. We conclude that ionic channels can account for large variations in spike threshold.

**Citation:** Platkiewicz J, Brette R (2010) A Threshold Equation for Action Potential Initiation. PLoS Comput Biol 6(7): e1000850. doi:10.1371/journal.pcbi.1000850

**Editor:** Lyle J. Graham, Université Paris Descartes, Centre National de la Recherche Scientifique, France

**Received:** January 26, 2010; **Accepted:** June 3, 2010; **Published:** July 8, 2010

**Copyright:** © 2010 Platkiewicz, Brette. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Funding:** This work was supported by the European Research Council (ERC StG 240132): <http://erc.europa.eu/>. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

\* E-mail: [romain.brette@ens.fr](mailto:romain.brette@ens.fr)

## Introduction

Spike initiation in neurons follows the *all-or-none* principle: a stereotypical action potential is produced and propagated when the neuron is sufficiently excited, while no spike is initiated below that threshold. The value of that threshold sets the firing rate and determines the way neurons compute, for example their coincidence detection properties [1,2]. It is generally described as a voltage threshold: spikes are initiated when the neuron is depolarized above a critical value, when voltage-dependent sodium channels start to open. That biophysical mechanism is well understood since the studies of Hodgkin and Huxley in the squid giant axon [3] and subsequent modeling studies [4–7].

Recent findings have renewed the interest in the spike threshold. First, there is an intense ongoing debate about the origin of threshold variability observed *in vivo* [8–14]. In particular, it is unclear whether threshold variability is mainly due to experimental artifacts or molecular mechanisms, which might question the relevance of the Hodgkin-Huxley model for central neurons. Moreover, numerous experiments have shown that spike initiation does not only depend on the membrane potential but also on complex features of the inputs. For example, it depends on the preceding rate of depolarization [15–21] and on the preceding interspike intervals [12,22]. Those properties are functionally important because they enhance the selectivity of neurons in several sensory modalities, in particular in audition [23], vision [24], and touch [21].

Developmental and learning studies have also shown that the threshold adapts to slow changes in input characteristics. This phenomenon is known as long-term plasticity of intrinsic

excitability and may be involved in the regulation of cell firing, short term memory and learning [25–31]. The excitability threshold also varies with the distance to the soma in a given neuron and with cell type [2,15,32–35], which may explain functional differences.

The modulation of cell excitability might be explained by the activation of voltage-gated potassium channel Kv1 [36–41], inactivation of voltage-gated sodium channels [15,16,19,21], fluctuations in sodium channel gating [42], inhibitory synaptic conductance [43–45] and the site of spike initiation [14]. To understand the origin of spike threshold variability, we examined the role of several candidate mechanisms in biophysical neuron models: activation and inactivation of the sodium channel, slow voltage-gated channels (e.g. Kv1), synaptic conductances and the site of spike initiation. Our analysis is based on a simplification of the membrane equation near spike initiation and results in a simple formula for the spike threshold that quantifies the contribution of all those mechanisms. The threshold formula provides an instantaneous time-varying value which was found to agree well with numerical simulations of Hodgkin-Huxley type models driven by fluctuating inputs mimicking synaptic activity *in vivo*, and with simulations of a realistic multi-compartmental model of spike initiation [54].

## Results

### What is the spike threshold?

**Spike threshold *in vitro*.** In a typical *in vitro* experiment, one measures the response of the cell to a controlled stimulus, whose strength is defined by a parameter (e.g. current intensity). The

## Author Summary

Neurons communicate primarily with stereotypical electrical impulses, action potentials, which are fired when a threshold level of excitation is reached. This threshold varies between cells and over time as a function of previous stimulations, which has major functional implications on the integrative properties of neurons. Ionic channels are thought to play a central role in this modulation but the precise relationship between their properties and the threshold is unclear. We examined this relationship in biophysical models and derived a formula which quantifies the contribution of various mechanisms. The originality of our approach is that it provides an instantaneous time-varying value for the threshold, which applies to the highly fluctuating regimes characterizing neurons *in vivo*. In particular, two known ionic mechanisms were found to make the threshold adapt to the membrane potential, thus providing the cell with a form of gain control.

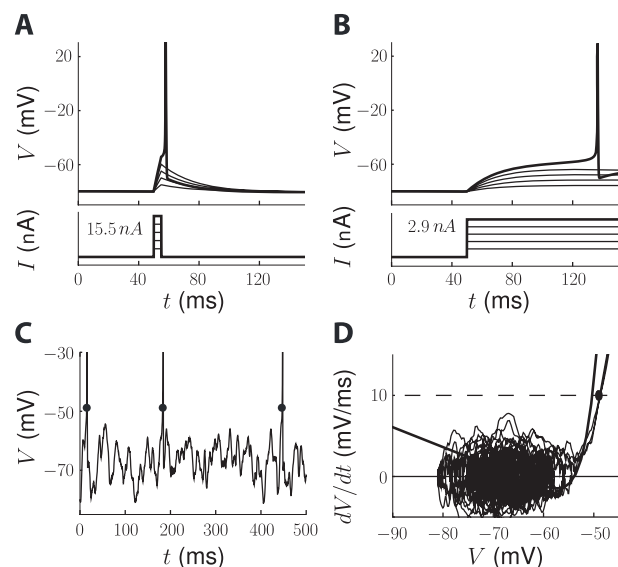
excitability threshold is then defined as the minimal value of this parameter above which a spike is elicited. Thus, the threshold is initially defined in stimulus space, for example as a charge threshold for short current pulses (Fig. 1A, simulated recording) or as a current threshold for current steps or ramps (Fig. 1B). The stimulus threshold corresponds to a voltage value, which we call the *voltage threshold*, but that value depends on the type of stimulation [46]. Nevertheless, we are interested in the voltage threshold rather than in the stimulus threshold because only the voltage is usually available in intracellular recordings *in vivo*.

**Spike threshold *in vivo*.** Since the input to the neuron is not directly controlled *in vivo*, the concept of spike threshold does not have exactly the same meaning as *in vitro*. Rather, it is defined as the voltage at the “onset” of action potentials (Fig. 1C), as observed on an intracellular recording of the membrane potential. Therefore the spike threshold is an empirical quantity that hopefully captures the same concept as *in vitro*, i.e., the point above which an action potential is initiated. Several measures of spike onset have been used in experimental studies [47]. The first derivative method consists in measuring the membrane potential  $V$  when its derivative  $dV/dt$  crosses an empirical criterion [8,34] (Fig. 1D). The second and third derivative methods consist in measuring  $V$  when respectively  $d^2V/dt^2$  and  $d^3V/dt^3$  reach their maximum [12,21]. Sekerli et al. (2004) compared those methods by asking electrophysiologists to identify spike onsets by eye on several membrane potential traces [47]. They found that visual inspection was best matched by the first derivative method, although that method critically relies on the choice of the derivative criterion (Fig. 2C,D). However, all methods produced the same relative variations of the measured threshold.

**Spike threshold in models.** It might seem confusing that the definition of the voltage threshold is ambiguous and that most modulation effects that have been reported in the literature seem to apply to spike onset rather than spike threshold. However, as remarked in [47], those measures differ in absolute value but they vary in the same way. We can relate those definitions with a simple one-dimensional neuron model, where the membrane potential is governed by a differential equation:

$$C \frac{dV}{dt} = F(V) + I$$

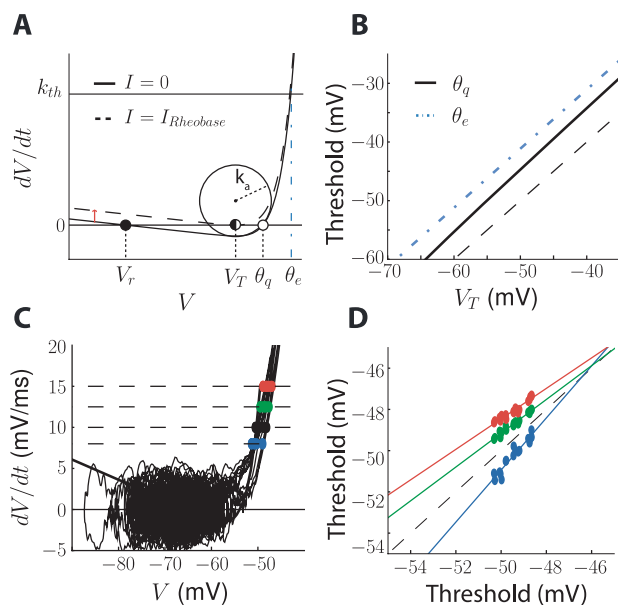
where  $C$  is the membrane capacitance,  $F(V)$  is the sum of all



**Figure 1. Spike threshold definitions.** All plots were generated using the single-compartment model described in the Materials and Methods. A, *In vitro*, the neuron is stimulated with short current pulses with increasing intensity (bottom) and the threshold is the minimal value of that intensity above which the neuron spikes (top). The voltage threshold is the value of the membrane potential at that critical point. B, The threshold can be defined similarly with current steps (bottom) or other types of parameterized stimulations, yielding different values for the voltage threshold. C, *In vivo*, spike “threshold” is defined as a measure of the voltage at the onset of the action potential (black dots). The plot shows a simulated trace of a conductance-based model with fluctuating conductances (see Materials and Methods) and threshold is measured with the first derivative method. D, Representation of the trace in (C) in phase space, showing  $dV/dt$  vs.  $V$ . The first derivative method consists in measuring the membrane potential  $V$  when the derivative crosses a predefined value (dashed line) shortly before an action potential. The trace is superimposed on the excitability curve  $dV/dt = (F(V) + I_0)/C$ , which defines the dynamics of the model.  $I_0$  is the mean input current, so that trajectories in phase space fluctuate around this excitability curve. doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.g001

intrinsic voltage-dependent currents and  $I$  the input current. The dynamics of the membrane potential is determined by the excitability curve in phase space ( $dV/dt$  as a function of  $V$ , Fig. 2A). With no DC injected current ( $I = 0$ , solid curve), the differential equation has two fixed points, which are solutions of  $F(V) = 0$ : the lower one is stable and corresponds to the resting potential and the higher one is unstable and corresponds to the threshold for fast depolarizations (short current pulses, i.e.,  $I(t) = q\delta(t)$ ), which we denote  $\theta_q$ . Indeed, after depolarization, the membrane potential  $V$  either goes back to the resting potential if  $V < \theta_q$  or keeps on increasing if  $V > \theta_q$ , leading to a spike. If the neuron is progressively depolarized with a slowly increasing current, then the excitability curve slowly shifts upwards, depolarizing the stable potential, until the curve is entirely above zero and the neuron spikes (Fig. 2A, dashed curve). At that critical point, the curve is tangential to the horizontal axis and the voltage  $V_T$  corresponds to the minimum of that curve:  $F'(V_T) = 0$ . Thus, the voltage threshold for slow inputs (i.e., DC currents, or slow current ramps) is the solution of  $F'(V) = 0$  and the voltage threshold for fast inputs (i.e., instantaneous charge inputs, or short current pulses) is the solution of  $F(V) = 0$  with  $F'(V) > 0$ .

The current-voltage function  $F(V)$  can be approximated by an exponential function near spike initiation (see Materials and



**Figure 2. Relationships between spike threshold definitions.** A, Excitability curve of the neuron model ( $dV/dt = (F(V) + I)/C$ ; see Materials and Methods) for DC input current  $I = 0$  (solid curve) and  $I = I_{Rheobase}$  (dashed curve). With  $I = 0$ , the lower equilibrium (filled circle) corresponds to the resting potential  $V_r$ , while the higher equilibrium (open circle) corresponds to the spike threshold with short pulses  $\theta_q$  (as in Fig. 1A); if the membrane potential is quickly shifted above  $\theta_q$ , the membrane potential blows up and the neuron spikes (thus, this corresponds to the case when  $I(t) = q\delta(t)$ , i.e., an impulse current). Slowly increasing the input current amounts to vertically shifting the excitability curve, and the membrane potential follows the resting equilibrium until it disappears, when  $I = I_{Rheobase}$ . The voltage  $V_T$  at that point corresponds to the minimum of the excitability curve. The empirical threshold  $\theta_e$  (with the first derivative method) is the voltage at the intersection of the excitability curve with the horizontal line  $dV/dt = k_{th}$  (dashed line). The slope threshold  $k_a$  corresponds to the radius of curvature at  $V_T$ . B, Threshold for short pulses  $\theta_q$  (solid line) and empirical threshold  $\theta_e$  (blue dashed line) as a function of the threshold for slow inputs  $V_T$  (black dashed line is the identity line): the definitions are quantitatively different but highly correlated. C, Dependence of empirical threshold on derivative criterion  $k_{th}$ : spike onsets are measured on a voltage trace (as in Fig. 1C) with derivative criterion  $k_{th} = 7.5$  mV/ms (blue dots), 10 mV/ms (black), 12.5 mV/ms (green) and 15 mV/ms (red). D, Empirical threshold measured with  $k_{th} = 7.5$  mV/ms (blue dots), 12.5 mV/ms (green) and 15 mV/ms (red) vs. threshold measured with 10 mV/ms, and linear regression lines. The dashed line represents the identity. The value of the derivative criterion ( $k_{th}$ ) impacts the threshold measure but not its relative variations. doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.g002

Methods), leading to the exponential integrate-and-fire model [48]. In that model, we can calculate the relationship between the voltage threshold for slow inputs  $V_T$  and the voltage threshold for fast inputs  $\theta_q$  (see Text S1):

$$\theta_q \approx V_T + \Delta_T \log \frac{V_T - E_L}{\Delta_T}$$

where  $\Delta_T$  is the slope factor, characterizing the sharpness of spikes (see Materials and Methods). In single-compartment models, this is related to the slope of the Na activation curve. This formula provides a simple monotonous relationship between the two types of threshold, which is almost linear (the derivative of  $\theta_q$  with respect to  $V_T$  is  $(1 + \frac{\Delta_T}{V_T - E_L})$ , which is close to 1; see Fig. 2B). In

our analysis, we chose the definition for slow depolarizations because it simplifies our formulas, but one can map the results to the definition for fast depolarizations using the formula above.

Empirical threshold measures used *in vivo* can be analyzed in the same way. For example, the voltage threshold measured by the first derivative method is the value  $\theta_e$  such that  $dV/dt = k_{th}$ , i.e., the solution of  $F(\theta_e) = Ck_{th} - I$ . The empirical threshold can be approximately related to  $V_T$  with the following formula (see Text S1):

$$\theta_e \approx V_T + \Delta_T \log \frac{V_T - (E_L + RI - \tau k_{th})}{\Delta_T}$$

where  $\tau = RC$  is the membrane time constant ( $R = 1/g_L$  is the membrane resistance). Although the relationship is more complex and shows a slight dependence on the input current  $I$  (thus increasing apparent threshold variability), it is still related with  $V_T$  through a monotonous (in fact quasi-linear) relationship and the choice of criterion  $k_{th}$  results mainly in a shift of the threshold, as shown in Fig. 2D.

In the remaining of this paper, we chose the voltage threshold for slow depolarizations  $V_T$  as the definition of the spike threshold (i.e., the voltage at current threshold).

## The threshold equation

**Sodium channel activation.** Cells excitability is generally due to the presence of voltage-gated sodium channels [49]. More precisely, Na channel activation gates mediate a positive feedback mechanism, which produces the instability phenomenon necessary to initiate an action potential. Activation is very fast compared to all other relevant time constants (a fraction of ms), in particular the membrane time constant [50]. We make the approximation that it is instantaneous, so that the proportion of open sodium channels at any time is  $P_a^\infty(V)$ . The membrane equation is then:

$$C \frac{dV}{dt} = g_{Na} P_a^\infty(V) (E_{Na} - V) + g_L (E_L - V)$$

where  $g_{Na}$  (resp.  $g_L$ ) is the maximum Na conductance (resp. leak conductance) and  $E_{Na}$  (resp.  $E_L$ ) is the Na reversal potential (resp. leak reversal potential). We neglect inactivation and other ionic channels for the moment (see below). The activation function  $P_a^\infty(V)$  is well approximated by a Boltzmann function [51] with half-activation voltage  $V_a$  and activation slope factor  $k_a$ . In the relevant part of that function, near spike initiation, it reduces to an exponential function and the membrane equation reads (see Materials and Methods):

$$C \frac{dV}{dt} \approx g_L k_a e^{\frac{V - V_T}{k_a}} + g_L (E_L - V)$$

where

$$V_T = V_a - k_a \log \frac{g_{Na} E_{Na} - V_a}{g_L k_a}$$

is the threshold (defined for slow inputs). The activation slope factor  $k_a$  corresponds to the steepness of the Na activation curve, and characterizes the sharpness of spikes in single-compartment models (in the limit  $k_a \rightarrow 0$  mV, the model tends to an integrate-and-fire model; it can be different in multicompartment models, see Discussion). The slope factor shows little variation across sodium channel types ( $k_a = 4-8$  mV for neuronal channels,

Angelino and Brenner, 2007 [51]). Thus, the threshold is primarily determined by the half-activation voltage and the density of sodium channels in log scale, relative to the leak conductance (see Fig. 3A–C).

This formula provides some quantitative insight about the role of Na channel on cell excitability. For example, Pratt and Aizenman (2007) observed that during development, tectal neurons adapt their intrinsic excitability to changes in visual input so as to stabilize output firing [28]. They hypothesized that this adaptation was mediated by regulation of Na channel density, which could be quantitatively evaluated using the formula above. Our formula also explains differences in excitability between cells. There are 9 Na channel types, which are expressed in different regions of the nervous system [52], and each one has specific properties, in particular specific values of  $V_a$  and  $k_a$ . In Fig. 3D, we show how the threshold varies with channel density for each channel type, based on the dataset collected by Angelino and Brenner (2007) [51]. For the same channel density, the threshold can differ by up to 50 mV between channel types. Lowest threshold values were found for Nav1.5, expressed in cardiac cells, and highest ones were found for Nav1.8, expressed in dorsal root ganglion. Interestingly, among all channel types expressed in central neurons, the one with lowest threshold is Nav1.6, which is expressed in the spike initiation zone in the axon hillock [53–55].

#### Sodium channel inactivation and other conductances.

The threshold can also be modulated by sodium channel

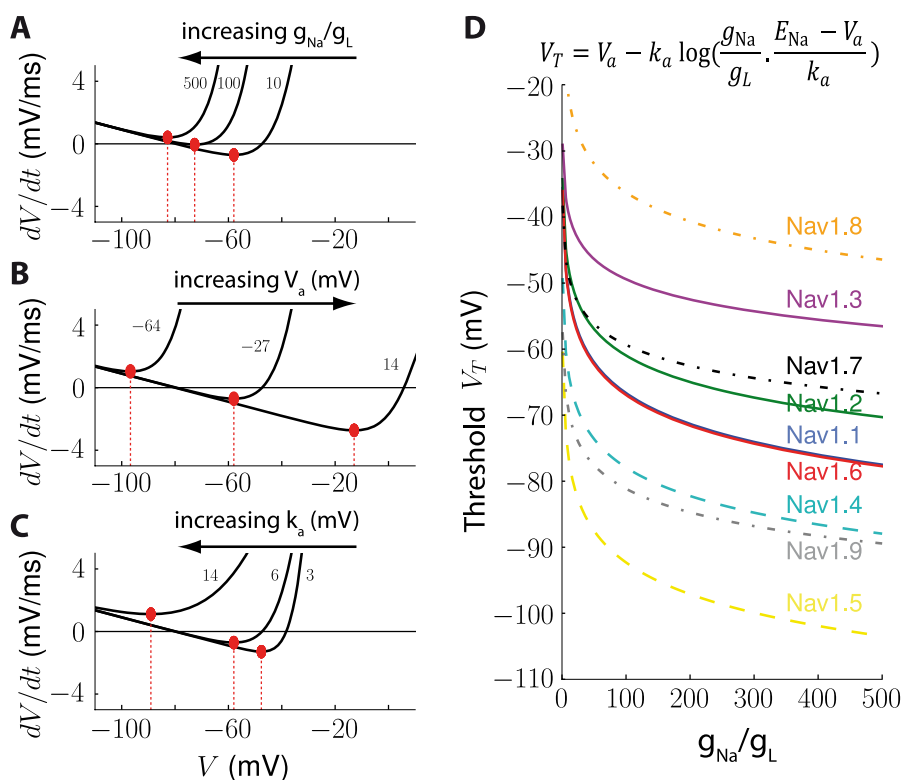
inactivation and by the many other ion channels that can be found in neurons [56–58]. These factors might explain the effects of preceding spikes and membrane potential history on cell excitability [56–58]. To examine how they may modulate the threshold, we make two important assumptions: 1) inactivation is independent from activation, 2) these processes are slow compared to the timescale of spike initiation (about a millisecond). We then consider the membrane equation near spike initiation:

$$C \frac{dV}{dt} = g_L k_a h e^{\frac{V-V_T}{k_a}} + g_L(E_L - V) + \sum_i g_i(E_i - V)$$

where  $h$  is the inactivation variable and  $g_i$  is the conductance of channel  $i$ , which may be voltage-gated (K<sup>+</sup> channel) or synaptic. The contribution of additional ionic channels can be summed to yield an effective channel with conductance  $g_{tot} = \sum_i g_i$  and reversal potential  $E^*$  (see Materials and Methods), while the inactivation variable  $h$  can be entered into the exponential function:

$$C \frac{dV}{dt} = g_{tot} k_a e^{\frac{V-E}{k_a}} + g_{tot}(E^* - V)$$

where



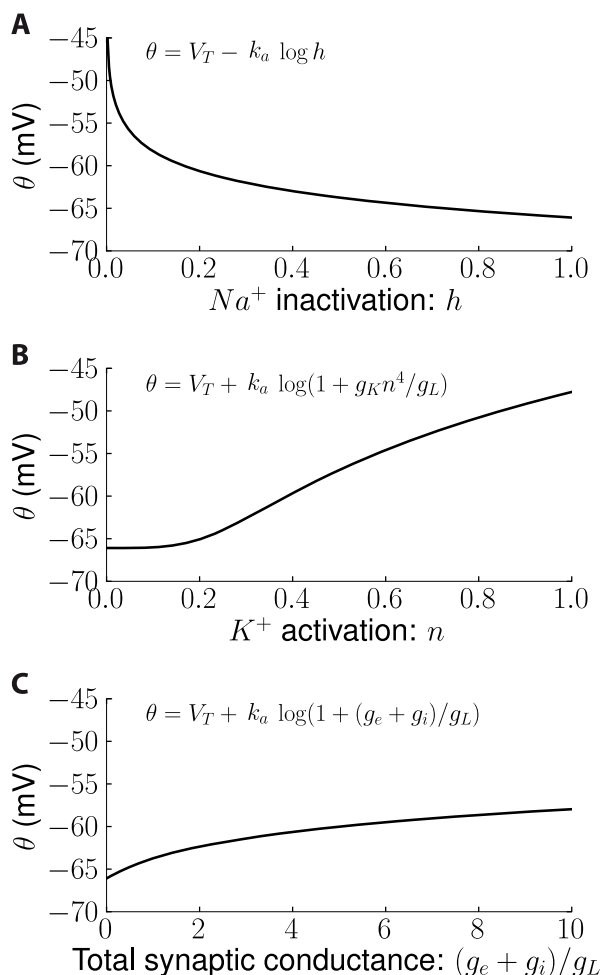
**Figure 3. Influence of Na activation characteristics on spike threshold.** A, Excitability curve of the model for different values of the ratio  $g_{Na}/g_L$  (maximum Na conductance over leak conductance), discarding inactivation ( $h = 1$ ) and other ionic conductances. The resulting threshold is shown with a red dot. B, Excitability curve for different values of half-activation voltage  $V_a$ . C, Excitability curve for different values of Boltzmann factor  $k_a$ . D, Threshold as a function of the ratio  $g_{Na}/g_L$  for the 9 types of voltage-gated sodium channels [52] with characteristics reported in (Angelino and Brenner, 2007 [51]). For each channel type, the mean threshold obtained across the dataset is plotted. Nav1.[1,2,3,6] are expressed in the central nervous system, Nav1.[4,5] are expressed in cardiac and muscle cells and Nav1.[7,8,9] are expressed in the peripheral nervous system. Nav1.6 is expressed at the action potential initiation site [53–55].

doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.g003

$$\theta = V_T - k_a \log h \frac{g_L}{g_{tot}} = V_T - k_a \log h + k_a \log \left( 1 + \frac{\sum g_i}{g_L} \right)$$

is the threshold (mathematically, it satisfies  $F'(\theta) = 0$ , where  $F$  is the current-voltage function of the model). We call the formula above the *threshold equation*. It provides the instantaneous value of the spike threshold as a function of the sodium inactivation variable  $h$  ( $1-h$  is the proportion of inactivated Na channels) and of the other ionic channel conductances, including synaptic conductances. To obtain this equation, we made a quasi-static approximation, i.e., we assume that all modulating variables ( $h$  and  $g_i$ ) vary slowly at the timescale of spike initiation. We note that the threshold is determined by the value of conductances relative to the leak conductance rather than by their absolute value.

Fig. 4 illustrates the dependence of threshold on Na inactivation and conductances. As expected, the threshold increases when  $h$  decreases, that is, when more Na channels inactivate. It also



**Figure 4. Influence of Na inactivation and ionic conductances on spike threshold in the conductance-based model ( $k_a = 3.4$  mV, see Materials and Methods).** A, Spike threshold  $\theta$  as a function of  $Na^+$  inactivation variable  $h$ , with all other ionic conductances suppressed. B, Threshold as a function of  $K^+$  activation variable  $n$ , without inactivation ( $h=1$ ). C, Threshold as a function of total synaptic conductance (excitatory  $g_e$  and inhibitory  $g_i$ ), relative to the resting conductance  $g_L$  (conductances are considered static). doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.g004

increases with the total non-sodium conductance, which is also intuitive: more Na conductance is required to produce a spike when the other conductances are larger. Threshold modulation is proportional to the slope factor  $k_a$ , which shows little variation across Na channel types (4–8 mV in neuronal channels).

The threshold equation predicts several effects. Spike threshold should be higher *in vivo* than *in vitro* because the total conductance is several times larger [59]. For the same reason, it should also be higher in up states than in down states. It is correlated with sodium inactivation, so that it should increase with the membrane potential, as observed *in vitro* and *in vivo* [15,16,54]. Besides, threshold modulation by inactivation is strongest when many Na channels are inactivated ( $h$  close to 0), that is, when the neuron is depolarized. Spike threshold is correlated with voltage-gated conductances such as those of  $K^+$  channels. For high-threshold  $K^+$  channels with large conductance, the spike threshold increases by  $k_a$  when the membrane potential increases by  $V_a^{K+}$  (slope of  $K^+$  channel activation function). Indeed, far from half-activation value  $V_a^{K+}$ , the  $K^+$  activation curve is approximately  $P_a^\infty(V) \approx \exp\left(\frac{V - V_a^{K+}}{k_a^{K+}}\right)$ , which implies that threshold modulation is  $k_a \log \frac{g_{tot}}{g_L} \approx \text{constant} + \frac{k_a}{k_a^{K+}} V$  (provided  $K^+$  conductance is large enough). It also increases after each action potential (see below). Inactivation and adaptive voltage-gated conductances (e.g.  $Kv1$ ) have similar effects but inactivation is “invisible”, in the sense that it affects excitability without changing the membrane potential or the total conductance.

### Threshold dynamics

To derive the threshold equation, we made a quasi-static approximation, assuming that all mechanisms that modulate the threshold are slow processes (compared to the timescale of spike initiation). That threshold equation provides an instantaneous value of the spike threshold, as a function of modulating variables. Here we show how the dynamics of sodium inactivation, voltage-gated conductances and synaptic conductances translate into spike threshold dynamics.

**Sodium inactivation.** Several authors have hypothesized that Na inactivation is responsible for experimentally observed threshold variability *in vivo* [12,15,16,21]. We have shown that the instantaneous value of the spike threshold depends on the value of the inactivation variable  $h$  ( $1-h$  is the proportion of inactivated channels). We assume, as in the Hodgkin-Huxley model, that  $h$  evolves according to a first-order kinetic equation:

$$\tau_h(V) \frac{dh}{dt} = h_\infty(V) - h$$

where  $\tau_h(V)$  is the time constant and  $h_\infty(V)$  is the equilibrium value. This differential equation translates into a differential equation for the threshold  $\theta$  (see Materials and Methods), which can be approximated by a similar first-order kinetic equation:

$$\tau_\theta(V) \frac{d\theta}{dt} = \theta_\infty(V) - \theta$$

where  $\theta_\infty(V) = V_T - k_a \log h_\infty(V)$  is the equilibrium value of the threshold. A linearized version of this equation was recently proposed as a simplified model of post-inhibitory facilitation in brainstem auditory neurons [60]. This is also consistent with previous results *in vitro* showing that the instantaneous value of the threshold increases with the membrane potential [61].

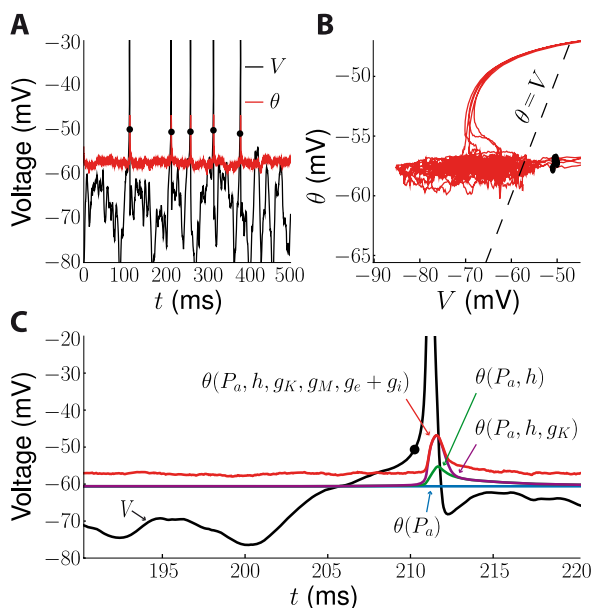


This equation allows us to predict the time-varying value of the threshold from the membrane potential trace (provided that Na inactivation properties are known). The threshold time constant is given by the inactivation time constant (which is voltage-dependent). Fig. 5 shows how the spike threshold varies in a biophysical model with fluctuating synaptic conductances.

The effect of previous spikes on spike threshold, which is presumably due to slow Na inactivation [12], can be understood by looking at how an action potential acts on the inactivation variable  $h$ . Typical equilibrium curves for Na inactivation  $h_\infty(V)$  are Boltzmann functions with half-activation values  $V_i \approx -60$  mV and Boltzmann coefficients  $k_i \approx 6$  mV [51], so that  $h_\infty(V)$  is close to 0 after spike initiation. Thus during the action potential, the inactivation variable relaxes to 0 according to the following equation:

$$\tau_h(V) \frac{dh}{dt} = -h$$

If we note  $\tau_h^*$  the average value of the time constant  $\tau_h(V)$  during the action potential and  $\delta t$  the spike duration (typically, a few ms), then the effect of an action potential on  $h$  is a partial reset:  $h \rightarrow h e^{-\delta t / \tau_h^*}$ , which translates for the threshold into a shift:  $\theta \rightarrow \theta + (\delta t / \tau_h^*) k_a$ . In other words, the spike threshold increases by



**Figure 5. Dynamical spike threshold.** A, Voltage trace of the fluctuating conductance-based model (black line) and predicted threshold according to our threshold equation ( $\theta$ , red line), calculated continuously as function of  $h$ ,  $g_K$ ,  $g_e$  and  $g_i$ . Black dots represent spike onsets (empirical threshold with the first derivative method). B, Predicted threshold vs. membrane potential for the trace in A. Trajectories lie above theoretical threshold on the right of the dashed line ( $V > \theta$ ). C, Zoom on the second spike in A. Colored lines represent increasingly complex threshold predictions: using Na activation characteristics only (blue,  $\theta = V_T$ ), with Na channel inactivation (green,  $\theta = V_T - k_a \log h$ ), with potassium channel activation (purple,  $\theta = V_T - k_a \log(h) + k_a \log(1 + \frac{g_K}{g_L})$ ) and with synaptic conductances (red,  $\theta = V_T - k_a \log(h) + k_a \log(1 + \frac{g_K + g_e + g_i}{g_L})$ ). Here the threshold varies mainly after spike onset.  
doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.g005

a fixed amount after each spike, which contributes to the neuron refractory period (see Fig. 5C). This effect was recently demonstrated *in vitro* [22] and explains *in vivo* observations where the threshold was found to be inversely correlated with the previous interspike interval [12]. If the inactivation time constant is long compared to the typical interspike interval, we predict that the threshold should be linearly correlated with the firing rate.

**Voltage-dependent conductances.** In the same way, the dynamics of voltage-dependent conductances translates into threshold dynamics. Potassium currents, in particular Kvl delayed rectifier currents, are also thought to play a role in threshold modulation [36–41]. Let us consider a current with Hodgkin-Huxley-type kinetics:  $I_k = g_\infty n^4 (E_K - V)$ , with  $\tau_n(V) \frac{dn}{dt} = n_\infty(V) - n$  ( $n$  is the activation variable). The corresponding equation for the threshold dynamics then reads (see Materials and Methods):

$$\tau_n(V) \frac{d\theta}{dt} = \theta_\infty(V) - \theta$$

where  $\theta_\infty(V) = V_T + k_a \log(1 + \frac{g_K}{g_L} n_\infty^4(V))$  is the equilibrium threshold value (we neglected Na inactivation). Thus, the threshold adapts to the membrane potential. The effect of action potentials can be described similarly as for Na inactivation, except  $n$  relaxes to 1 during the action potential, yielding the following reset:  $n \rightarrow 1 - \alpha(1 - n)$ . It also results in threshold increase, although it is not additive. This effect also contributes to the neuron refractory period, not only by decreasing the membrane resistance, but also by increasing the spike threshold (see Fig. 5C).

**Synaptic conductances.** Finally, synaptic conductances fluctuate *in vivo*, which also impacts the instantaneous value of the threshold, through the following equation:

$$\theta(t) = V_T + k_a \log\left(1 + \frac{g_e(t) + g_i(t)}{g_L}\right)$$

where we neglected Na inactivation and voltage-gated conductances to simplify the formula, and  $g_e(t)$  (resp.  $g_i(t)$ ) is the excitatory (resp. inhibitory) synaptic conductance. This formula emphasizes the fact that the threshold equation defines an instantaneous value, which applies to realistic *in vivo* situations where synaptic activity fluctuates. However, we need to make the approximation that fluctuations are slow compared to spike initiation.

Spikes can be triggered either by an increase in the excitatory conductance or by a decrease in inhibitory conductance. In the former case, the total conductance increases and the threshold increases while in the latter case the threshold decreases. In high-conductance regimes (typical of cortical neurons *in vivo*), it has been argued that spikes are mainly triggered by inhibitory decrease because synaptic inhibition is dominant [59,62]. It might imply that faster depolarization corresponds to lower inhibitory conductance and lower threshold, so that depolarization speed is inversely correlated with spike threshold, as observed experimentally [15]. However, this effect is fundamentally limited by the fact the inhibitory conductance cannot be negative.

### Spike initiation site

**Effect of neuronal morphology.** Spikes are initiated in the axon initial segment (AIS) in spinal motoneurons [63] and in cortical neurons [64], about 35–50  $\mu$ m from the soma [54,55]. Our analysis relies on a single-compartment model of spike

generation, but the axon hillock is connected with the soma through a large section and with the rest of the axon through a smaller section. To evaluate how electrotonically far the spike initiation site is from the soma, we can compare the length of the AIS to its electrotonic length, given by the following formula [65]:

$$\lambda = \sqrt{\frac{dR_m}{4R_i}}$$

where  $d \approx 1.5 \mu\text{m}$  is the diameter,  $R_i \approx 150 \Omega\cdot\text{cm}$  is the intracellular resistivity, and  $R_m \approx 35,000 \Omega\cdot\text{cm}^2$  is the membrane specific resistance [66–68]. We obtain a value of  $\lambda \approx 935 \mu\text{m}$ , many times larger than the distance between the soma and the initiation site. Therefore, below threshold, it is reasonable to consider the soma and AIS as a single electrotonic compartment. Indeed, simultaneous measurements at both sites show that the voltage time course is nearly identical at the two sites before spike initiation [14,34]. We provide a more detailed analysis in Text S1. We note that the situation changes when an action potential is initiated, because the opening of Na channels reduces the electrotonic length and invalidates the single compartment approximation, which has implications on the shape of action potentials (see Discussion).

For the threshold equation, these considerations imply that conductance values in the equation refer to total conductances over the surface of the soma, proximal dendrites and AIS. Since channel densities are different on these sites, the total conductance for a given ionic channel is  $g = G_{\text{soma}}S_{\text{soma}} + G_{\text{dendrites}}S_{\text{dendrites}} + G_{\text{AIS}}S_{\text{AIS}}$ , where  $G_{\text{soma}}$  (resp.  $G_{\text{dendrites}}$ ,  $G_{\text{AIS}}$ ) is the channel density on the soma (resp. dendrites, AIS) and  $S_{\text{soma}}$  (resp.  $S_{\text{dendrites}}$ ,  $S_{\text{AIS}}$ ) is the area of the soma (resp. dendrites, AIS). We give a specific example below.

**Na channel density in the AIS.** Spikes could be initiated in the AIS rather than in the soma because of higher Na channel density [66,69–71], or lower Na half-activation voltage  $V_a$  [72] in the first segment. Recent experiments and computational modeling suggest that the former hypothesis is more plausible [34,69,70]. As an application of our analysis, we can estimate the Na channel density at the AIS using the parameter values reported in [70]. Since Na channels are mainly located in the AIS, we use  $g_{\text{Na}} = G_{\text{Na}}S_{\text{AIS}}$ . The measured spike threshold (at the AIS) was  $\theta = -54 \text{ mV}$ . To calculate the total leak conductance, we injected a DC current into the soma (using the published model) and obtained  $g_L = 59 \text{ nS}$ . We chose this direct method because it is difficult (although possible using linear cable theory) to calculate the total leak conductance using the neuronal morphology, because some of the dendrites may be electrotonically far. The threshold equation relates the threshold value  $\theta$  to the values of  $g_{\text{Na}}$ ,  $g_{\text{tot}}$  and the Na channel properties. We can easily invert this relationship, which gives the following formula:

$$g_{\text{Na}} \approx G_{\text{Na}}S_{\text{AIS}} \approx g_L \frac{k_a}{E_{\text{Na}} - V_a} e^{\frac{V_a - \theta}{k_a}}$$

Using the values from Kole et al. (2008) [70] for the channel properties and neuron geometry ( $V_a = -31.1 \text{ mV}$ ,  $k_a = 6.5 \text{ mV}$ ,  $S_{\text{AIS}} = 871.3 \mu\text{m}^2$ ,  $E_{\text{Na}} = 55 \text{ mV}$ ), we find  $G_{\text{Na}} \approx 2463 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ , which is very close to the empirically reported value ( $2500 \text{ pS}/\mu\text{m}^2$ ).

## Accuracy of the threshold equation

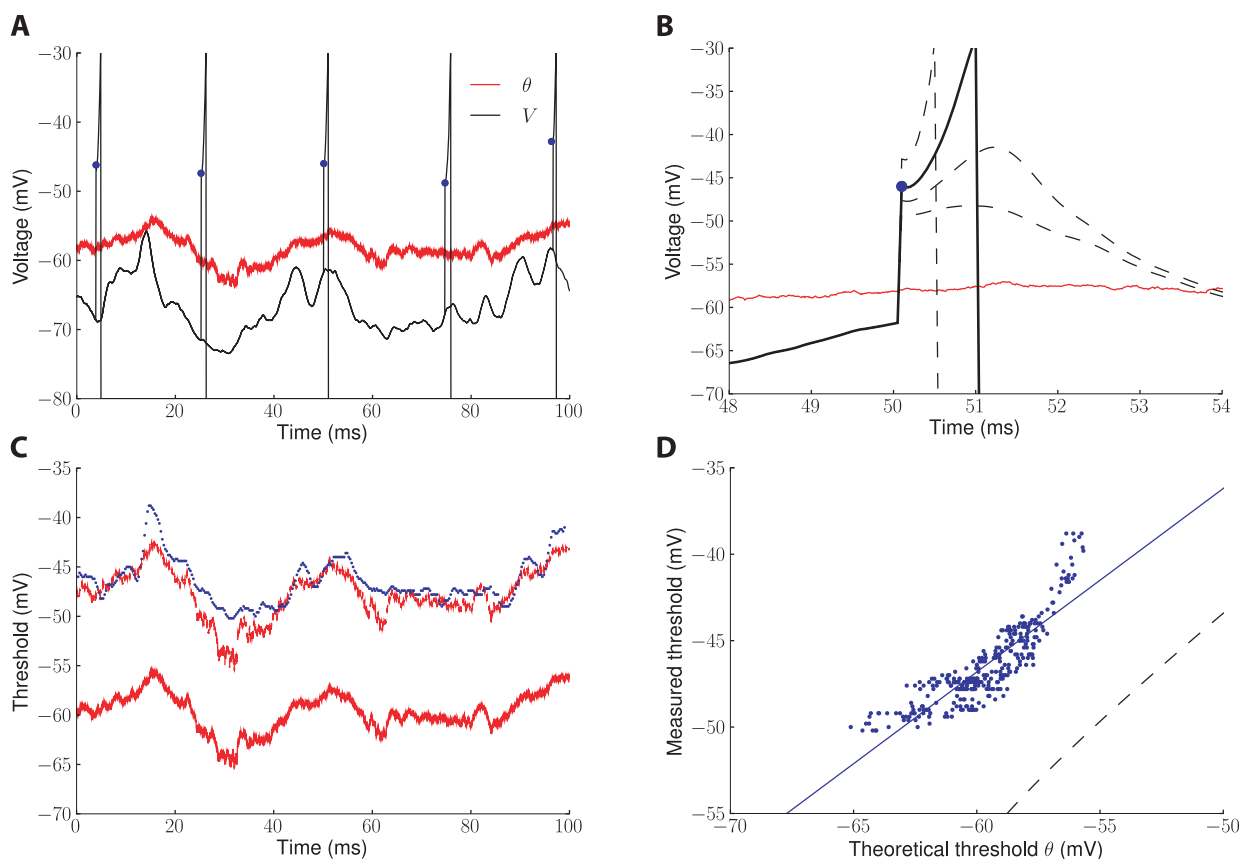
**Threshold dynamics in a single-compartment model.** To evaluate the quality of the threshold equation, we first simulated a biophysical single-compartment model with fluctuating synaptic conductances, mimicking the effect of

synaptic activity *in vivo*. The instantaneous value of the threshold was measured by injecting brief current pulses of varying amplitude in repeated trials with the same synaptic inputs (Fig. 6A, B; see Materials and Methods), and we compared this time-varying value with the prediction from the threshold equation, including the effects of Na inactivation, voltage-gated channels and synaptic conductances. We used this particular stimulation protocol to measure the value of the threshold at any time, rather than only at spike time. We shifted the Na inactivation curve by  $-12.5 \text{ mV}$  so as to obtain more threshold variability (the original model shows little variability). The threshold equation predicted the variations of the measured threshold very well (83% of the variance), with a constant shift which can also be predicted (Fig. 6C, D). This shift has two causes. Firstly, the threshold was measured with brief pulses whereas the predicted threshold corresponds to the definition with slow inputs. Using our formula relating the two definitions (Text S1) indeed reduced this shift from  $13.5 \text{ mV}$  to  $7.4 \text{ mV}$  (Fig. 6D). Secondly, because we had to shift the inactivation curve to observe substantial threshold variability, spike threshold was depolarized closer to Na half-activation voltage ( $-30 \text{ mV}$ ) and the activation curve is less exponential in that region. Indeed, if  $V_T$  is calculated as the minimum of the excitability curve rather than with the exponential formula, we find  $V_T = -60.6 \text{ mV}$ , which exactly compensates the  $7.4 \text{ mV}$  shift. When these two predictable biases were taken into account, both the mean and time course of the prediction matched the measured threshold (Fig. 6C, dashed red line). When we did not shift Na inactivation as much, these biases were reduced but the model displayed little variability, which made the prediction less interesting. We address this point in more detail in the Discussion.

In this single-compartment model, threshold variability is much lower than observed *in vivo*. However, the half-inactivation voltage  $V_i$  in the model is  $-42 \text{ mV}$ , while experimental measurements suggest values around  $-60 \text{ mV}$  in central neurons (e.g. Kole et al. (2008) [70]). According to our analysis, this reduces threshold variability because Na channels do not inactivate below threshold ( $\log h \approx 0$ ). In Fig. 7, we hyperpolarized  $V_i$  by  $20 \text{ mV}$ , giving  $V_i = -62 \text{ mV}$ , close to experimental values, and measured the spike threshold with fluctuating inputs (Fig. 7A). We found that the threshold varied over more than  $10 \text{ mV}$  and the standard deviation  $2.2 \text{ mV}$  (Fig. 7B), similar to values reported *in vivo* [15]. According to the threshold equation, most threshold variability was due to Na inactivation. A linear regression at spike times gave  $\theta \approx -54 - 3.1 \log h \text{ (mV)}$  (Fig. 7C). This  $3.1 \text{ mV}$  factor is close to the value of  $k_a$  in this model, as measured by fitting a Boltzmann function to the Na activation curve around  $-50 \text{ mV}$  (see Discussion). We also observe that, in this single-compartment simulation, many spikes were small (Fig. 7A). This is not unexpected, because spikes should be smaller when Na channels are partially inactivated. However, this property should not be taken as a prediction, because it is known that the correct spike shape of cortical neurons cannot be recovered in single-compartment models [10,13].

**Threshold prediction in a realistic multicompartmental model of spike initiation.** We then checked the accuracy of the threshold equation with a realistic multicompartmental model of spike initiation, where action potentials are initiated in the axon [54]. We injected a fluctuating current in the soma and compared measured spike thresholds with our theoretical predictions (Fig. 8). Spikes were initiated in the axon  $400 \pm 60 \mu\text{s}$  earlier than observed at the soma (Fig. 8B). When action potentials were removed from the voltage traces, the membrane potential was  $1.8 \pm 0.6 \text{ mV}$  higher at the soma than at the spike initiation site in the axon





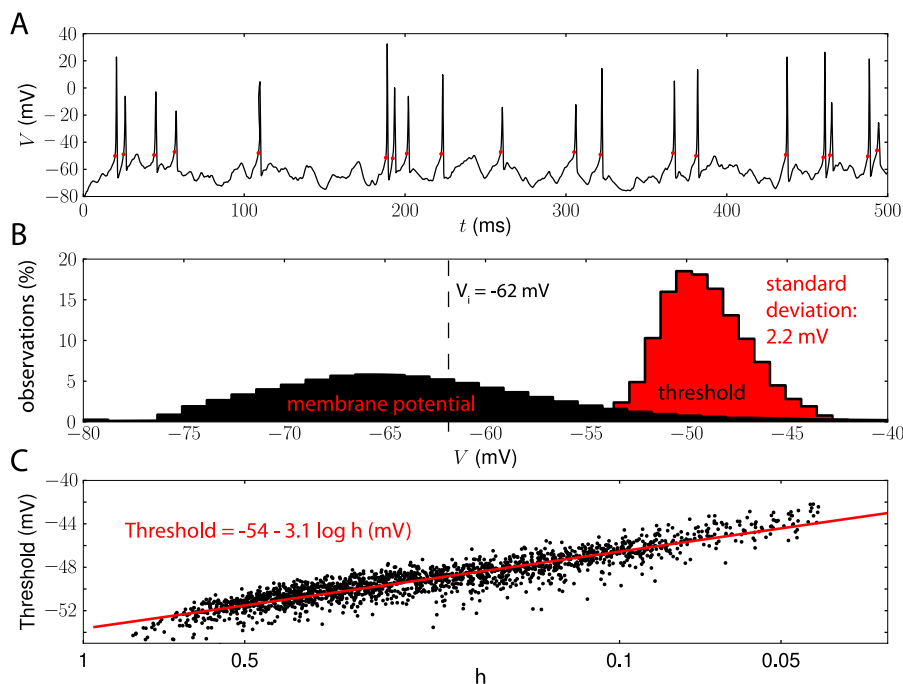
**Figure 6. Predicted versus measured dynamical threshold.** A, Five superimposed voltage traces of the fluctuating conductance-based model (black traces) stimulated at different times with random depolarization (blue dots show the value of the membrane potential just after the stimulation). Synaptic conductances are identical on all trials. In these examples the stimulations elicited spikes, in other cases (smaller depolarization) they did not. The theoretical threshold is shown in red. B, At a given time (here  $t = 50$  ms), trials with varying depolarization are compared and the measured threshold is defined as the minimal depolarization that elicits a spike (blue dot). C, Predicted threshold (red line) and measured threshold (blue) as a function of time. The shift is mainly due to the fact that the measured threshold is defined with fast inputs (charge threshold) whereas the theoretical threshold is defined with slow inputs: this bias can be calculated and corrected for, as shown by the dashed red line (see also text). D, Measured threshold vs. theoretical threshold for the entire trace (blue dots; blue line: linear regression). The dashed line represents the ideal relationship, taking into account the theoretical difference between threshold for fast inputs and for slow inputs ( $V_T = \theta_q - k_a \log \left( \frac{\theta_q - E_L}{k_a} \right)$ ). doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.g006

initial segment (AIS; Fig. 8C). The threshold measured at the soma was  $-47.7 \pm 2.8$  mV and varied between  $-52.1$  mV and  $-42.2$  mV (Fig. 8D). Its distribution significantly overlapped the subthreshold distribution of the membrane potential, as observed *in vivo*. We estimated the activation properties of the Nav1.6 channel, which is responsible for spike initiation in this model, by fitting a Boltzmann function to the activation curve ( $P_a^\infty(V) = m_\infty(V)^3$ ) in the spike initiation zone ( $-60$  mV to  $-40$  mV). We found  $V_a = -33$  mV and  $k_a = 3.6$  mV (Fig. 8E, F). This is different from experimentally reported values (in particular,  $k_a$  is smaller) because these were obtained by fitting the activation curve on the entire voltage range. We address this specific point in the Discussion. We then calculated the total maximal conductance of the Nav1.6 channels (over the AIS), the slow K<sup>+</sup> channels (K<sub>m</sub>) and the fast K<sup>+</sup> channels (K<sub>v</sub>), using the published morphology and channel density (see Materials and Methods).

Using these estimated values and the time-varying values of the channel variables ( $h$ ,  $n_{K_m}$ ,  $n_{K_v}^4$ ) at the AIS, we calculated the theoretical threshold at all times, and compared the prediction with the measured threshold at spike times (Fig. 8G). Values of the channel variables were taken at the time of spike initiation in the

AIS and the threshold was measured at the AIS (black) and at the soma (red). The prediction with the threshold equation was very good: the average error was 0.7 mV. The threshold prediction was on average only 0.49 mV higher than the measured threshold. However, this excellent match is probably fortunate because the value of the measured threshold is correlated with the measurement criterion (on  $dV/dt$ ) and in general, we would expect a constant shift between prediction and measurement. When this shift was removed, the average prediction error was 0.53 mV. Among the different contributions to the threshold, we found that only Na inactivation had a significant impact. The fast K<sup>+</sup> current (IK<sub>v</sub>) had a very high maximum conductance but was only activated after spike initiation, while the slow K<sup>+</sup> current (IK<sub>m</sub>) had a small maximum conductance. According to the threshold equation, total conductance contributed only 0.07 mV to threshold variability. A linear regression gave  $\theta \approx V_T + k_a \log h$  with  $V_T = -56$  mV and  $k_a = 3.6$  mV, very close to our predicted values, and the average estimation error with this formula was 0.08 mV.

These results show that the value of the membrane potential at spike onset is well predicted by the threshold equation. However, to prove that our equation really defines a spike threshold, we also



**Figure 7. Threshold variability and Na channel inactivation in a single-compartment model.** A, We simulated the same model as in Fig. 6, but the half-inactivation voltage  $V_i$  was shifted to  $-62$  mV (instead of  $-42$  mV in the original model) to increase threshold variability. As a result, spike height was also more variable. B, The threshold distribution (red) spanned a range of more than 10 mV (standard deviation 2.2 mV) and overlapped with the membrane potential distribution (black). C, According to the threshold equation, most threshold variability was due to Na inactivation. Black dots show the measured threshold vs. the inactivation variable  $h$  (in log scale) at spike times. The linear regression (red line) gives a slope of 3.1 mV, close to the value of  $k_a$  in this model (Fig. 9D). doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.g007

need to show that the membrane potential is always below the predicted threshold before spikes. In Fig. 8H, we plotted the membrane potential vs. the predicted threshold for the entire voltage trace (5 seconds). It clearly appears that the neuron spikes when its membrane potential exceeds the predicted threshold, and that the potential is always below threshold between spikes.

## Discussion

The spike threshold differs between cells and for different types of stimulations [2,15,32,33,35]. We have identified several modulation factors, whose quantitative influence is summarized by the *threshold equation*:

$$\theta = V_a - k_a \log \left( \frac{g_{Na} E_{Na} - V_a}{g_L k_a} \right) - k_a \log h + k_a \log \frac{g_{tot}}{g_L}$$

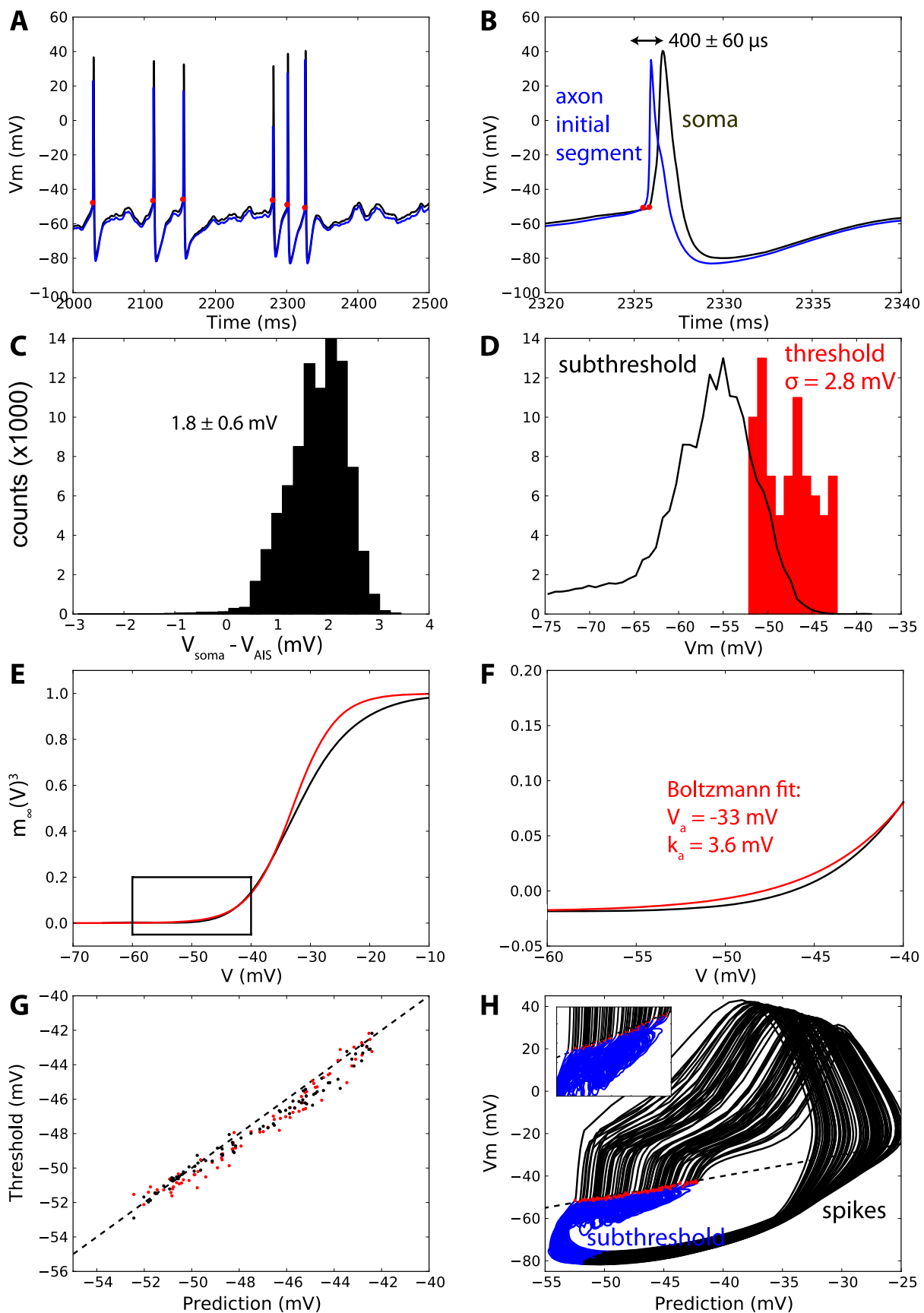
That formula relates the value of the threshold to the activation and inactivation properties of the Na channel, the properties of other voltage-gated channels such as Kv1 and synaptic conductances ( $g_{tot}$  is total conductance, excluding Na conductance). It consists of a static part (first two terms), determined by the properties of Na channel activation, and of a dynamic part, which depends on the proportion of inactivated Na channels ( $1-h$ ) and on the total conductance of other channels.

It describes the voltage threshold at the site of spike initiation (rather than at the soma), and is correlated but not identical to empirical “threshold” measures, which measure spike onset rather than threshold (those normally overestimate the threshold). From that formula, we were able to derive a dynamical equation for the

instantaneous threshold, which explains the variability of the spike threshold in the same cell and predicts its relationship with previous membrane potential history. We found that the threshold equation was a good predictor of the time-varying threshold in biophysical models with fluctuating inputs (Fig. 6–8).

## Mechanisms for threshold modulation and variability

Since Na channels are responsible for the generation of action potentials, the threshold is firstly determined by their activation characteristics. Activation curves for Na channels are well approximated by Boltzmann functions with similar slope factors ( $k_a = 4$ – $8$  mV in neuronal channels). The threshold is linearly related to the half-activation value  $V_a$  and logarithmically related to the maximum Na conductance  $g_a$ . The threshold also depends logarithmically on the Na inactivation variable  $h$ , so that it increases with the membrane potential and with every emitted spike. The modulating effect of inactivation is most pronounced when the half-activation value  $V_i$  is lowest (i.e., Na channels are partially inactivated at rest). Finally, the threshold depends logarithmically on the total conductance, which includes the leak conductance, voltage-gated conductances and synaptic conductances. In particular, Kv1 channels, which are expressed with high density at the spike initiation site [37,39,41], increase the threshold in an adaptive manner (the threshold increases with the membrane potential). This change in threshold occurs simultaneously with the effective membrane time constant, whereas threshold changes due to Na inactivation have no effect on the time constant, which might suggest a way to experimentally distinguish between the two effects. Indeed, the effective membrane time constant (as measured *in vivo* for example in Léger et al., 2003 [73]) is  $\tau_{eff} = C/g_{tot}$  ( $C$  is



**Figure 8. Accuracy of the threshold equation in a multicompartmental model of spike initiation [54].** A, Voltage trace at the soma (black) and at the spike initiation site in the axon initial segment (AIS, blue) in response to a fluctuating current. The spike threshold was measured at the soma when  $dV/dt$  exceeded  $10 \text{ V.s}^{-1}$  (red dots). B, Zoom on an action potential: spikes were initiated at the AIS  $400 \pm 60 \mu\text{s}$  before observed at soma. C, Between spikes, the membrane potential was slightly higher at the soma than at the AIS ( $1.8 \pm 0.6 \text{ mV}$ ). D, The spike threshold (measured at the soma) was very variable (standard deviation  $2.8 \text{ mV}$ ): its distribution spanned  $10 \text{ mV}$  ( $-52$  to  $-42 \text{ mV}$ ) and significantly overlapped the subthreshold distribution of the membrane potential (i.e., with spikes removed). E, F, We fitted the activation curve of the Nav1.6 channel (black) to a Boltzmann function (red) in the spike initiation zone (rectangle and panel F), yielding  $V_a = -33 \text{ mV}$  and  $k_a = 3.6 \text{ mV}$ . G, Measured threshold (red: at the soma, black: at the AIS) vs. theoretical prediction for all spikes. The dashed line represents equality (measurement = prediction). H, Somatic membrane potential vs. theoretical threshold at all times. Spikes are shown in black (defined as voltage trace  $7 \text{ ms}$  from spike onset), subthreshold trajectories in blue and spike times as red dots: spikes are indeed initiated when the membrane potential exceeds the theoretical threshold (inset: zoom on spike onsets). doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.g008

the membrane capacitance) while the effect of total conductance on spike threshold varies as  $k_a \log g_{\text{tot}}$ , therefore as  $-k_a \log \tau_{\text{eff}}$ . It is currently unclear whether threshold modulation is mainly due to Na inactivation or delayed-rectifier K currents. Our simulations with the multicompartmental model of spike initiation in pyramidal cells [54] suggest that the spike threshold is essentially determined by Na inactivation, but this may not be universally true. Recent experimental findings in hippocampal mossy fibers [74] suggest that delayed K<sup>+</sup> currents are closed at spike initiation, which minimizes charge movements across the membrane and is thus more metabolically efficient. It emphasizes the fact that Na inactivation is a more metabolically efficient way to modulate spike threshold than K<sup>+</sup> activation, since the former reduces charge transfer while the latter increases it.

We have not considered the effect of channel noise, i.e., fluctuations in Na channel gating [42,75–78], which result in random threshold variations. Although dynamical equations of fluctuations in Na channel gating are well set [79,80], they cannot be included in our theoretical framework because we neglected the time constant of Na activation (which leads to the exponential model).

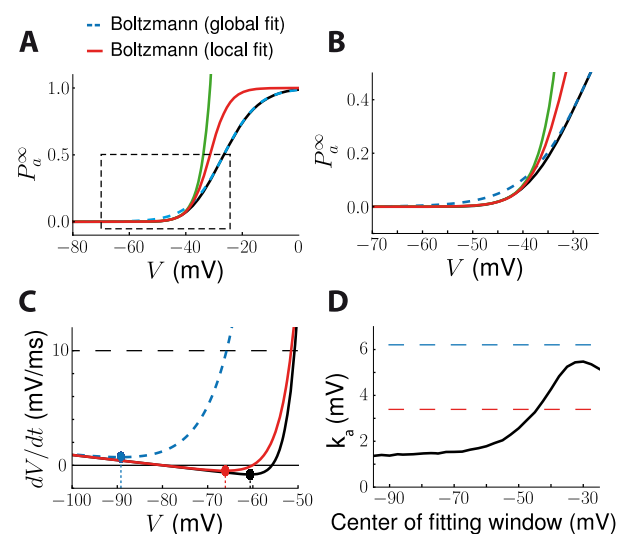
There are two additional sources of variability which are artefactual: the fact that the threshold is not measured at the site of spike initiation, and threshold measurement methods. The latter source is difficult to avoid *in vivo* because only spike onsets can be measured. The former one also seems technically very difficult to avoid *in vivo*, since spikes are initiated in the axon hillock, which is only a few microns large. Although the soma and AIS are virtually isopotential below threshold, experimentally measured values of threshold differ between the two sites [34] because, as we previously remarked, *in vivo* measurements correspond to spike onset rather than threshold and therefore take place after spike initiation, when the two sites are not isopotential anymore. This experimental difficulty may introduce artefactual variability in threshold measurements [14].

### Approximations in the threshold equation

To derive the threshold equation, we made several simplifying assumptions. First, we assumed that Na activation is instantaneous. It is indeed significantly faster than all other time constants but not instantaneous. The approximation is legitimate as long as the effective membrane time constant in the membrane equation is small ( $C/\sum g_i$ , including all conductances), which is generally true before threshold. When Na channels open, the Na conductance dominates the total conductance and drastically reduces the effective time constant. Thus, we expect this approximation to be reasonable to predict spike initiation properties but not spike shape characteristics. Our second major assumption is a quasistatic approximation, i.e., we assume that near spike initiation, all modulating variables and the input current can be considered as constant. In other words, we assume that the time constants (except that of Na activation) are larger than a few ms. This is clearly only a mathematically convenient approximation, but our predictions empirically

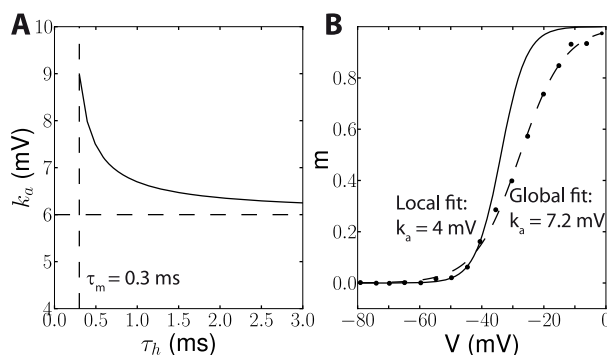
agreed with numerical simulations. To investigate the role of Na inactivation, we also assumed that activation and inactivation are independent, which is a standard simplifying hypothesis (Hille, 2001). Although it is debatable [49,56], it should remain valid in the case where activation and inactivation time constants are well separated.

We also assumed that Na activation and inactivation curves were Boltzmann functions. Experimental data is indeed well fitted by Boltzmann functions, but the reported parameter values ( $V_a$ ,  $k_a$ ) correspond to fits on the entire voltage range, whereas we are interested in hyperpolarized voltage regions where the activation values are small. When only the relevant part of the experimental data is considered, different parameter values might be obtained. For example, when analyzing previously published biophysical models, we found that better results were obtained when Na activation curves, which were not exactly Boltzmann functions, were fitted in the spike initiation region ( $-60$  to  $-40 \text{ mV}$ ) rather than on the entire voltage range (Fig. 9). We examined this issue in



**Figure 9. Fitting the Na activation curve to a Boltzmann function.** A, The Na channel activation curve of the conductance-based model (black line) was fit to a Boltzmann function on the entire voltage range (dashed blue line) and on the spike initiation range only ( $-60 \text{ mV}$  to  $-40 \text{ mV}$ , red line). The green line shows the exponential fit on the spike initiation range. B, In the hyperpolarized region (zoom of the dashed rectangle in A), the global Boltzmann fit (dashed blue line) is not accurate, while the local Boltzmann fit and the local exponential fit better match the original curve. C, For hyperpolarized voltages ( $< -50 \text{ mV}$ ), the resulting excitability curve is closer to the original curve (black) with a local Boltzmann fit (red) than with a global fit (dashed blue), yielding more accurate threshold estimations (dots). D, The estimated Boltzmann slope  $k_a$  is very sensitive to the position of the fitting window and varies between  $2 \text{ mV}$  and  $6 \text{ mV}$ . doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.g009

the biophysical model used in this paper (see Materials and Methods). The Na activation curve of this model seemed to be well fit to a Boltzmann function (Fig. 9A), however the fit was poor in the spike initiation zone ( $-60$  to  $-40$  mV, Fig. 9C) where activation is close to zero, which makes fit errors relatively larger. Although the slope factor  $k_a$  is about 6 mV when the activation curve is fit over the entire voltage range, similar to experimental measurements [51], it is only half this value when fit in the spike initiation region (Fig. 9D), which explains why this model, as many other biophysical models, exhibits little threshold variability (since threshold modulation is proportional to  $k_a$ ). We calculated the slope factor as a function of the voltage region and we found that it varies between 1 and 6 mV (Fig. 9D). This finding motivates a reexamination of Na channel voltage-clamp data, focusing on the spike initiation region rather than on more depolarized regions, which are more relevant for spike shape than spike initiation. Fig. 10 addresses two potential difficulties. In experiments, activation curves are obtained by measuring the peak conductance after the clamp voltage is changed from an initial value  $V_0$  to a target value  $V$ , and normalizing over the entire range of target voltages. Thus, it assumes that inactivation is still at resting level  $h(V_0)$  when the peak current is measured. This would not be the case if the inactivation time constant  $\tau_h$  were close to the activation time constant  $\tau_m$ . Fig. 10A shows the effect of this overlap on the measurement of  $k_a$  with simulated voltage-clamp data, where  $m_\infty(V)^3$  is a Boltzmann function with  $k_a = 6$  mV. It appears that  $k_a$  is overestimated if  $\tau_h$  is very close to  $\tau_m$ , up to 50% when the two time constants are equal (to 0.3 ms in these simulations). However the error quickly decreases as  $\tau_h$  increases (e.g. 10% error for  $\tau_h = 1$  ms). Another potential difficulty is the lack of data points in the relevant voltage range and the measurement noise, because currents are small. In Fig. 10B, we digitized an experimentally measured activation curve (black dots), where clamp voltages were spaced by 5 mV. A Boltzmann fit over the entire voltage range gave  $k_a = 7.2$  mV while a fit over the hyperpolarized region  $V < -40$  mV gave  $k_a = 4$  mV. However,



**Figure 10. Experimental difficulties in the measurement of Na activation curves.** A, Estimation of the activation slope  $k_a$  from simulated voltage-clamp data as a function of the inactivation time constant  $\tau_h$ . The model was of a membrane with only Na channels, and activation and inactivation curves were Boltzmann functions (see Materials and Methods). The activation slope was measured by a Boltzmann fit in the hyperpolarized region ( $V < -40$  mV). The activation slope  $k_a$  was 6 mV in the model (dashed line), but the measurement overestimated it when the inactivation time constant was very close to the activation time constant. B, Na activation curve measured in vitro (dots, digitized from [86]) and Boltzmann fits over the entire voltage range (dashed curve) and over the hyperpolarized range ( $V < -40$  mV, solid curve).

doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.g010

the latter is not a reliable estimate because it corresponds to only 4 non-zero data points, which also seem to be corrupted by noise. Therefore it might be necessary to perform new measurements, specifically focusing on the spike initiation zone, perhaps with multiple measurements to reduce the measurement noise. Alternatively,  $k_a$  could be measured with a phenomenological approach, using white noise injection in current clamp [22]. Another possible approach would be to directly fit the excitability model to the current-clamp response of a cell in which only Na channels would be expressed (perhaps with fluctuating inputs).

Finally, our analysis relies on a single compartment model. In the compartmental model, we found that between spikes, the membrane potential was  $1.8 \pm 0.6$  mV more depolarized at the soma than at the AIS. This is small compared to the slopes of all activation and inactivation curves in this model (5–9 mV). This agrees with our analysis of the electrotonic length in the subthreshold range, which is much larger than the distance between the soma and the AIS, although very fast synaptic inputs or proximal axonal inhibition could produce larger voltage gradients. Thus, our analysis should remain valid if the compartment represents both the soma and initiation site (and also proximal dendrites). However, that approximation is not valid anymore after spike initiation (see below).

### Sharpness of spikes and threshold variability

Spikes look sharper in the soma than in the AIS, presumably because they are initiated in the AIS and back-propagated to the soma [10,13,14]. That property is also seen in numerical simulations of multicompartmental models [34,70]. Yet, linear cable theory predicts the opposite property: the voltage at the soma is a low-pass filtered version of the voltage at the AIS, therefore spikes should look less sharp in the soma. Thus, increased sharpness must be due to active backpropagation of the action potential, which cannot be seen in a two compartment model (such as described in Text S1). From a theoretical point of view, the sharpening effect of backpropagation can be intuitively understood from the cable equation:

$$\tau_m \frac{\partial V}{\partial t} = E_L - V + \text{ionic currents} + \lambda^2 \frac{\partial^2 V}{\partial x^2}$$

It appears that the membrane equation is augmented by a diffusion term, which is positive and large in the rising phase of the action potential between the initiation site and the soma. Thus, for the same membrane potential  $V$ , the time derivative gets larger as this diffusion term increases, which sharpens action potentials.

Sharpness can be measured in numerical simulations by plotting  $dV/dt$  vs.  $V$  in response to a suprathreshold DC current, and fitting it to an exponential model ( $g_L \Delta_T e^{(V-V_T)/\Delta_T} + g_L(E_L - V)$ ). In the model of Hu et al. [54], we found that the slope factor, characterizing spike sharpness, was  $\Delta_T = 1.6$  mV in the AIS and only 0.8 mV in the soma. This is in approximate agreement with empirical fits of exponential integrate-and-fire models to cortical neurons stimulated with fluctuating inputs, which reveal a surprisingly small slope factor  $\Delta_T$ , slightly above 1 mV [22]. Thus, in the multicompartmental model, active backpropagation did increase spike sharpness in the soma, but also in the AIS, since the slope factor was about twice smaller than predicted from fitting the Na activation curve to a Boltzmann function (3.6 mV). This increased sharpness did not affect the magnitude of threshold modulation. In single-compartment models, sharpness of spikes and threshold modulation are determined by the same quantity, related to the sharpness of the Na activation curve ( $k_a$ ). It appears that this link does not hold anymore when active backpropagation

is considered (in multicompartmental models). Thus, in the threshold equation, the modulating factor is indeed  $k_a$  (from the Na activation curve) rather than  $\Delta_T$  (from spike sharpness, measured in the phase plot ( $dV/dt$ , V)). This explains that Na inactivation can produce large threshold variability (10 mV in our simulations) even though spikes are very sharp.

## Materials and Methods

### Membrane equation

We consider a single-compartment neuron model with voltage-gated sodium channels and other ion channels (voltage-gated or synaptic), driven by a current  $I$ . The membrane potential  $V$  is governed by the membrane equation:

$$C \frac{dV}{dt} = g_{Na} P_{Na} (E_{Na} - V) + \sum_i g_i (E_i - V) + g_L (E_L - V) + I$$

where  $C$  is the membrane capacitance,  $g_L$  (resp.  $E_L$ ) is the leak conductance (resp. reversal potential),  $g_i$  (resp.  $E_i$ ) is the conductance (resp. reversal potential) of channel  $i$ ,  $g_{Na}$  (resp.  $E_{Na}$ ) the maximum conductance (resp. reversal potential) of sodium channels,  $P_{Na}$  is the proportion of open Na channels and  $I$  is the input current. In this article, we used the following convention for conductances: lower case ( $g$ ) for the total conductance over the surface of a compartment (typically in units of nS) and upper case ( $G$ ) for conductances per unit area (in units of S/cm<sup>2</sup>).

We assume that sodium channel activation and inactivation are independent, as in the Hodgkin-Huxley model [3], i.e.,  $P_{Na} = P_a(1 - P_i)$ , where  $P_a$  is the probability that activation gates are open and  $P_i$  is the probability that a channel is inactivated. Following the Hodgkin-Huxley formalism, we define  $h = 1 - P_i$ . The steady-state activation curve  $P_a^\infty(V)$  can be empirically described as a Boltzmann function [51]:

$$P_a^\infty(V) = \frac{1}{1 + \exp\left(-\frac{V - V_a}{k_a}\right)}$$

where  $V_a$  is the half-activation voltage ( $P_a^\infty(V_a) = 1/2$ ) and  $k_a$  the activation slope factor ( $P_a^{\infty'}(V_a) = 1/(4k_a)$ ). We make the approximation that Na activation is instantaneous and we replace  $P_a$  by its equilibrium value, so that  $P_{Na} = hP_a^\infty(V)$ .

### Exponential approximation

With instantaneous activation, the sodium current is:

$$I_{Na} = g_{Na} h \frac{E_{Na} - V}{1 + \exp\left(-\frac{V - V_a}{k_a}\right)}$$

Action potentials are initiated well below  $V_a$  (about  $-30$  mV, Angelino and Brenner, 2007 [51]), so that  $e^{-(V - V_a)/k_a} \gg 1$  except during the spike. Similarly,  $E_{Na}$  is very high (about 55 mV), so that  $E_{Na} - V$  is not very variable below threshold. We make the approximation  $E_{Na} - V \approx E_{Na} - V_a$  and we obtain:

$$I_{Na} = g_{Na} h (E_{Na} - V_a) e^{(V - V_a)/k_a} = g_L h k_a e^{(V - V_T)/k_a}$$

where  $V_T = V_a - k_a \log \frac{g_{Na} E_{Na} - V_a}{g_L}$ . This approximation is

meaningful for spike initiation but not for spike shape. With a reset (ignoring inactivation and other ionic channels), we obtain the exponential integrate-and-fire model [48], which predicts the response of cortical neurons to somatic injection with good accuracy, in terms of spike timings [22,81,82]. In this model,  $V_T$  is the voltage threshold for constant input currents  $I$  and  $k_a$  (originally denoted  $\Delta_T$ ) is the slope factor, which measures the sharpness of spikes: in the limit  $k_a \rightarrow 0$  mV, the model becomes a standard integrate-and-fire model with threshold  $V_T$  (although this is different in multicompartmental models, see Discussion). The resulting approximated model is thus:

$$C \frac{dV}{dt} = g_L h k_a e^{(V - V_T)/k_a} + \sum_i g_i (E_i - V) + g_L (E_L - V) + I$$

It is convenient to sum all conductances (except for the Na channel), which gives a simpler expression:

$$C \frac{dV}{dt} = g_L h k_a e^{(V - V_T)/k_a} + g_{tot} (E^* - V) + I$$

where  $g_{tot} = g_L + \sum_i g_i$  is the total conductance and  $E^*$  is the effective reversal potential:

$$E^* = \frac{g_L E_L + \sum_i g_i E_i}{g_{tot}}$$

Finally, the inactivation variable  $h$  can be inserted in the exponential function:

$$C \frac{dV}{dt} = g_{tot} k_a e^{(V - \theta)/k_a} + g_{tot} (E^* - V) + I$$

where

$$\theta = V_T - k_a \log h \frac{g_L}{g_{tot}} = V_T - k_a \log h + k_a \log \left(1 + \frac{\sum_i g_i}{g_L}\right)$$

is the voltage threshold if all other variables are constant, i.e., it is such that  $F'(\theta) = 0$ , where  $F$  is the current-voltage function.

### Dynamic threshold

The effect of Na inactivation on the threshold can be seen in the exponential model above, neglecting other conductances (thus  $\theta = V_T - k_a \log h$ ). Assuming that inactivation is slow compared to spike initiation (quasi-static approximation), the voltage threshold is now  $\theta$ , and it changes with the inactivation variable  $h$ . We assume, as in the Hodgkin-Huxley model, that inactivation has first-order kinetics:

$$\tau_h(V) \frac{dh}{dt} = h_\infty(V) - h$$

The steady-state value of the threshold is thus  $\theta_\infty = V_T - k_a \log h_\infty(V)$ . We differentiate the threshold equation with respect to time:

$$\frac{d\theta}{dt} = -k_a \frac{1}{h} \frac{dh}{dt} = -k_a \frac{1}{h} \frac{h_\infty(V) - h}{\tau_h(V)}$$

We now express  $h$  as a function of  $\theta$  using the invert relationships:  $h = e^{(\theta - V_T)/k_a}$  and  $h_\infty = e^{(\theta_\infty - V_T)/k_a}$ .



$$\tau_h(V) \frac{d\theta}{dt} = k_a (1 - e^{\frac{\theta - \theta_\infty(V)}{k_a}})$$

If the threshold remains close to its steady-state value ( $|\theta - \theta_\infty(V)| \ll k_a$ ), the equation simplifies to:

$$\tau_\theta(V) \frac{d\theta}{dt} = \theta_\infty(V) - \theta$$

with  $\tau_\theta = \tau_h$ . The same method applies for voltage-gated conductances (e.g. Kv1).

### Numerical simulations

We compared our theoretical predictions with numerical simulations of a previously published point-conductance model with fluctuating synaptic inputs [83]. The membrane equation is:

$$C \frac{dV}{dt} = g_{Na} m^3 h (E_{Na} - V) + g_K n^4 (E_K - V) + g_M p (E_K - V) + g_L (E_L - V) + I$$

where  $g_K$  and  $n$  are respectively the maximal conductance and the activation variable of the delayed-rectifier potassium current, and  $g_M$  and  $p$  are respectively the maximal conductance and the activation variable of the non-inactivating K current. All channel variables have standard Hodgkin-Huxley type dynamics.

In Fig. 3A–C, only Na channel activation was considered, with instantaneous dynamics, i.e.,  $m = m_\infty(V)$ ,  $h = 1$ ,  $n = 0$ ,  $p = 0$ ,  $I = 0$ :

$$C \frac{dV}{dt} = F(V) = g_{Na} m_\infty(V)^3 (E_{Na} - V) + g_L (E_L - V)$$

In Fig. 3D, the threshold equation was used to calculate  $V_T$  for the Na channel properties reported in Angelino and Brenner (2007) [51], since only the values of  $V_a$  and  $k_a$  were available.

To evaluate our threshold equation with time-varying inputs (Figs. 2C, 5 and 6), we simulated the full conductance-based model with fluctuating synaptic conductances (same parameters as in Destexhe et al., 2001 [83]). In Fig. 6, we shifted the voltage dependence of Na inactivation toward hyperpolarized potentials by  $-12.5$  mV so as to obtain more threshold variability. To measure the time-varying threshold, we used a similar method as one previously used *in vitro* by Reyes and Fetz [84,61]. We simulated the model for 200 ms and measured the instantaneous threshold  $\theta(t)$  at regular time intervals  $T$  as follows. The model was simulated repeatedly with the same synaptic inputs (frozen noise). In each trial, the neuron was depolarized at time  $nT$  (only once per 100 ms run) to a voltage value between  $-51$  mV and  $-38$  mV. With  $T = 0.6$  ms and 65 voltage values, we ran 22,000 trials. The threshold at a given time is defined as the minimal voltage value above which a spike is elicited. The measured threshold was compared to the prediction obtained with the threshold equation (see Results), where  $V_T$  and  $k_a$  were obtained from a Boltzmann fit to the activation function  $m_\infty(V)^3$  over the range  $-51$  mV to  $-38$  mV, giving  $V_T = -68$  mV and  $k_a = 3.7$  mV ( $V_a = -30.4$  mV). The values of  $V_T$  and  $k_a$  depended on the fitting window (see Discussion and Fig. 9). In Fig. 7, the voltage dependence of Na inactivation was shifted by  $-20$  mV to induce more threshold variability (giving  $V_i = -62$  mV instead of  $-42$  mV with the original parameter values) and the maximum Na conductance was multiplied by 3 (to keep threshold values in the same range). The standard deviations of synaptic conductances were also increased.

In Fig. 8, we simulated a multicompartmental model of spike initiation recently published by Hu et al. (2009) [54], with fluctuating injected current modeled as an Ornstein-Uhlenbeck process (mean 0.7 nA, standard deviation 0.2 nA, time constant 10 ms). The model was otherwise unchanged. The spike threshold, both at the soma and AIS, is defined at the voltage value when  $dV/dt$  first exceeds  $10 \text{ V.s}^{-1}$  preceding a spike. In some panels (Fig. 8C, D, H), we extracted spikes from voltage traces by removing parts between spike onsets and 7 ms later. We estimated the activation properties of the Nav1.6 channel, which is responsible for spike initiation in this model, by fitting a Boltzmann function to the activation curve ( $P_a^\infty(V) = m_\infty(V)^3$ ) in the spike initiation zone ( $-60$  mV to  $-40$  mV), which gave  $V_a = -33$  mV and  $k_a = 3.6$  mV. We then calculated the total maximal conductance of the Nav1.6 channel over the AIS, by integrating the channel density over the surface of the AIS (using the morphology and channel density implemented in the published model code). We found  $g_{Na} = 236$  nS. Calculating the total leak conductance in this way was more difficult because leak channels were uniformly distributed on the whole morphology, including the dendrites, so that spatial attenuation should be taken into account. While this is theoretically possible using linear cable theory, we chose a simpler approach by directly measuring the membrane resistance at the soma with a DC current injection, and we found  $g_L = 38$  nS. With these values, the threshold equation predicted that the base threshold is  $V_T = -55.9$  mV. The model had a slow K<sup>+</sup> current ( $I_m$ ) with the same channel density as the leak channels. Therefore the maximum total conductance was estimated as  $g_{Km} = g_L = 38$  nS. It also had a fast K<sup>+</sup> current which was distributed inhomogeneously on the whole neuron morphology, including dendrites. We estimated its total maximum conductance as  $g_{Kv} = G_{soma} S_{soma} + G_{dendrites} S_{dendrites} + G_{AIS} S_{AIS}$ , where the effective dendritic area was estimated from the ratio of total leak conductance over leak channel density, i.e.,  $S_{dendrites} = \frac{g_L}{G_L} - S_{soma}$ . We found  $g_{Kv} = 906$  nS. We then calculated the theoretical threshold using these parameters and the instantaneous values of the relevant channel variables ( $h$ ,  $n_{Km}$ ,  $n_{Kv}$ ).

In Fig. 10A, we simulated a voltage clamp experiment in a simplified model with only Na channels, assuming the leak current was subtracted, where both activation and inactivation curves ( $m_\infty(V)^3$  and  $h_\infty(V)$ ) were Boltzmann functions, with parameters  $V_a = -30$  mV,  $k_a = 6$  mV,  $V_i = -65$  mV and  $k_i = 6$  mV. The activation and inactivation time constant were fixed ( $\tau_m = 0.3$  ms and  $\tau_h$  between 0.3 and 3 ms). The conductance was measured at the current peak after the clamp voltage was switched from a fixed initial voltage  $V_0 = -70$  mV to a test voltage  $V$ , which was varied between  $-100$  and  $50$  mV (the current was divided by  $V - E_{Na}$  to obtain the conductance, and we assumed that  $E_{Na}$  was known - in an experiment it would be obtained from a linear fit to the highest voltage region). The conductance was normalized by the maximal conductance over the tested voltage range and the resulting curve was fit to a Boltzmann function in the hyperpolarized region  $V < -40$  mV.

All simulations were written with the Brian simulator [85] on a standard desktop PC, except the simulation of the multicompartmental model of Hu et al. [54], for which we used Neuron.

### Supporting Information

**Text S1** Supplementary Methods. A) Relationship between threshold definitions. B) Two compartments model.

Found at: doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.s001 (0.09 MB PDF)

## Acknowledgments

We thank Nicolas Brunel, Michael Brenner and Alain Destexhe for fruitful discussions and Dan Goodman for assistance with the numerical simulations.

## References

- Kempler R, Gerstner W, Hemmen JLV (1998) How the threshold of a neuron determines its capacity for coincidence detection. *Biosystems* 48: 105–112.
- Kuba H, Ishii TM, Ohmori H (2006) Axonal site of spike initiation enhances auditory coincidence detection. *Nature* 444: 1069–1072.
- Hodgkin AL, Huxley AF (1952) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol* 117: 500–544.
- Fitzhugh R (1955) Mathematical models of threshold phenomena in the nerve membrane. *Bulletin of mathematical biophysics* 17: 257–278.
- Fitzhugh R (1960) Thresholds and plateaus in the Hodgkin-Huxley nerve equations. *J Gen Physiol* 43: 867–896.
- Rinzel, Ermentrout (1989) Analysis of neural excitability and oscillations, Methods in neuronal modeling: From synapses to networks. Dans: Koch, Segev, eds. MA, USA: MIT Press Cambridge. pp 135–169.
- Noble D, Stein RB (1966) The threshold conditions for initiation of action potentials by excitable cells. *J Physiol* 187: 129–162.
- Azouz R, Gray CM (1999) Cellular mechanisms contributing to response variability of cortical neurons in vivo. *J Neurosci* 19: 2209–2223.
- Colwell IJ, Brenner MP (2009) Action potential initiation in the Hodgkin-Huxley model. *PLoS Comput Biol* 5: e1000265.
- McCormick DA, Shu Y, Yu Y (2007) Neurophysiology: Hodgkin and Huxley model—still standing? *Nature* 445: E1–2. discussion E2–3.
- Gutkin B, Ermentrout GB (2006) Neuroscience: spikes too kinky in the cortex? *Nature* 440: 999–1000.
- Henze DA, Buzsáki G (2001) Action potential threshold of hippocampal pyramidal cells in vivo is increased by recent spiking activity. *Neuroscience* 105: 121–130.
- Naundorf B, Wolf F, Volgushev M (2006) Unique features of action potential initiation in cortical neurons. *Nature* 440: 1060–1063.
- Yu Y, Shu Y, McCormick DA (2008) Cortical action potential backpropagation explains spike threshold variability and rapid-onset kinetics. *The Journal of Neuroscience* 28: 7260–7272.
- Azouz R, Gray CM (2000) Dynamic spike threshold reveals a mechanism for synaptic coincidence detection in cortical neurons in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 8110–8115.
- Azouz R, Gray CM (2003) Adaptive coincidence detection and dynamic gain control in visual cortical neurons in vivo. *Neuron* 37: 513–523.
- Polavieja GGD, Harsch A, Kleppe I, Robinson HPC, Jussola M (2005) Stimulus history reliably shapes action potential waveforms of cortical neurons. *J Neurosci* 25: 5657–5665.
- Ferragamo MJ, Oertel D (2002) Octopus cells of the mammalian ventral cochlear nucleus sense the rate of depolarization. *J Neurophysiol* 87: 2262–2270.
- Fricker D, Verheugen JA, Miles R (1999) Cell-attached measurements of the firing threshold of rat hippocampal neurones. *J Physiol* 517(Pt 3): 791–804.
- Wickens JR, Wilson CJ (1998) Regulation of action-potential firing in spiny neurons of the rat neostriatum in vivo. *J Neurophysiol* 79: 2358–2364.
- Wilent WB, Contreras D (2005) Stimulus-dependent changes in spike threshold enhance feature selectivity in rat barrel cortex neurons. *J Neurosci* 25: 2983–2991.
- Badel L, Lefort S, Brette R, Petersen CCH, Gerstner W, et al. (2008) Dynamic I–V curves are reliable predictors of naturalistic pyramidal-neuron voltage traces. *J Neurophysiol* 99: 656–666.
- Escabi MA, Nassiri R, Miller LM, Schreiner CE, Read HL (2005) The contribution of spike threshold to acoustic feature selectivity, spike information content, and information throughput. *J Neurosci* 25: 9524–9534.
- Priebe NJ, Ferster D (2008) Inhibition, spike threshold, and stimulus selectivity in primary visual cortex. *Neuron* 57: 482–497.
- Aizenman CD, Akerman CJ, Jensen KR, Cline HT (2003) Visually driven regulation of intrinsic neuronal excitability improves stimulus detection in vivo. *Neuron* 39: 831–842.
- Daoudal G, Debanne D (2003) Long-term plasticity of intrinsic excitability: learning rules and mechanisms. *Learn Mem* 10: 456–465.
- Maravall M, Stern EA, Svoboda K (2004) Development of intrinsic properties and excitability of layer 2/3 pyramidal neurons during a critical period for sensory maps in rat barrel cortex. *J Neurophysiol* 92: 144–156.
- Pratt KG, Aizenman CD (2007) Homeostatic regulation of intrinsic excitability and synaptic transmission in a developing visual circuit. *J Neurosci* 27: 8268–8277.
- Schulz DJ (2006) Plasticity and stability in neuronal output via changes in intrinsic excitability: it's what's inside that counts. *J Exp Biol* 209: 4821–4827.
- Spitzer NC, Kingston PA, Manning TJ, Conklin MW (2002) Outside and in: development of neuronal excitability. *Curr Opin Neurobiol* 12: 315–323.
- Zhang W, Linden DJ (2003) The other side of the engram: experience-driven changes in neuronal intrinsic excitability. *Nat Rev Neurosci* 4: 885–900.

## Author Contributions

Conceived and designed the experiments: JP RB. Performed the experiments: JP. Analyzed the data: JP RB. Wrote the paper: JP RB.

- Fried SI, Lasker ACW, Desai NJ, Eddington DK, Rizzo JF (2009) Axonal sodium-channel bands shape the response to electric stimulation in retinal ganglion cells. *J Neurophysiol* 101: 1972–1987.
- Kuba H, Yamada R, Fukui I, Ohmori H (2005) Tonotopic specialization of auditory coincidence detection in nucleus laminaris of the chick. *J Neurosci* 25: 1924–1934.
- Kole MHP, Stuart GJ (2008) Is action potential threshold lowest in the axon? *Nat Neurosci* 11: 1253–1255.
- Nowak LG, Sanchez-Vives MV, McCormick DA (2007) Lack of orientation and direction selectivity in a subgroup of fast-spiking inhibitory interneurons: cellular and synaptic mechanisms and comparison with other electrophysiological cell types. *Cereb Cortex* 18: 1058–1078.
- Chi XX, Nicol GD (2007) Manipulation of the potassium channel Kv1.1 and its effect on neuronal excitability in rat sensory neurons. *J Neurophysiol* 98: 2683–2692.
- Goldberg EM, Clark BD, Zagha E, Nahmani M, Erisir A, et al. (2008) K<sup>+</sup> channels at the axon initial segment dampen near-threshold excitability of neocortical fast-spiking GABAergic interneurons. *Neuron* 58: 387–400.
- Guan D, Lee JCF, Higgs MH, Spain WJ, Foecking RC (2007) Functional roles of Kv1 channels in neocortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 97: 1931–1940.
- Kole MHP, Letzkus JJ, Stuart GJ (2007) Axon initial segment Kv1 channels control axonal action potential waveform and synaptic efficacy. *Neuron* 55: 633–647.
- Gittelman JX, Tempel BL (2006) Kv1.1-containing channels are critical for temporal precision during spike initiation. *J Neurophysiol* 96: 1203–1214.
- Shu Y, Yu Y, Yang J, McCormick DA (2007) Selective control of cortical axonal spikes by a slowly inactivating K<sup>+</sup> current. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 11453–11458.
- White JA, Rubinstein JT, Kay AR (2000) Channel noise in neurons. *Trends Neurosci* 23: 131–137.
- Coombs JS, Eccles JC, Fatt P (1955) The inhibitory suppression of reflex discharges from motoneurons. *J Physiol* 130: 396–413.
- Monsivais P, Rubel EW (2001) Accommodation enhances depolarizing inhibition in central neurons. *J Neurosci* 21: 7823–7830.
- Qian N, Sejnowski TJ (1990) When is an inhibitory synapse effective? *Proc Natl Acad Sci U S A* 87: 8145–8149.
- Koch C, Bernander O, Douglas RJ (1995) Do neurons have a voltage or a current threshold for action potential initiation? *J Comput Neurosci* 2: 63–82.
- Sekerli M, Negro CAD, Lee RH, Butera RJ (2004) Estimating action potential thresholds from neuronal time-series: new metrics and evaluation of methodologies. *IEEE Trans Biomed Eng* 51: 1665–1672.
- Fourcaud-Trocmé N, Hansel D, Vreeswijk CV, Brunel N (2003) How spike generation mechanisms determine the neuronal response to fluctuating inputs. *J Neurosci* 23: 11628–11640.
- Hille B (2001) Ion channels of excitable membranes Sinauer Associates.
- Baranauskas G, Martina M (2006) Sodium currents activate without a Hodgkin- and Huxley-type delay in central mammalian neurons. *J Neurosci* 26: 671–684.
- Angelino E, Brenner MP (2007) Excitability constraints on voltage-gated sodium channels. *PLoS Comput Biol* 3: 1751–1760.
- Catterall WA, Goldin AL, Waxman SG (2005) International Union of Pharmacology. XLVII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated sodium channels. *Pharmacol Rev* 57: 397–409.
- Ogawa Y, Rasband MN (2008) The functional organization and assembly of the axon initial segment. *Curr Opin Neurobiol* 18: 307–313.
- Hu W, Tian C, Li T, Yang M, Hou H, et al. (2009) Distinct contributions of Na(v)1.6 and Na(v)1.2 in action potential initiation and backpropagation. *Nat Neurosci* 12: 996–1002.
- Kress GJ, Mennerick S (2009) Action potential initiation and propagation: beam influences on neurotransmission. *Neuroscience* 158: 211–222.
- Bean BP (2007) The action potential in mammalian central neurons. *Nat Rev Neurosci* 8: 451–465.
- Llinás RR (1988) The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous system function. *Science* 242: 1654–1664.
- McCormick DA (2004) Membrane Properties and Neurotransmitter Actions. Dans: Shepherd GM, ed. USA: Oxford University Press. pp 39–77.
- Destexhe A, Rudolph M, Paré D (2003) The high-conductance state of neocortical neurons in vivo. *Nat Rev Neurosci* 4: 739–751.
- Dodla R, Svirkis G, Rinzel J (2006) Well-Timed, Brief Inhibition Can Promote Spiking: Postinhibitory Facilitation. *J Neurophysiol* 95: 2664–2677.
- Reyes AD, Fetz EE (1993) Effects of transient depolarizing potentials on the firing rate of cat neocortical neurons. *J Neurophysiol* 69: 1673–1683.
- Piwkowska Z, Pospisil M, Brette R, Sliwa J, Rudolph-Lilith M, et al. (2008) Characterizing synaptic conductance fluctuations in cortical neurons and their influence on spike generation. *J Neurosci Methods* 169: 302–322.



63. Coombs JS, Curtis DR, Eccles JC (1957) The interpretation of spike potentials of motoneurons. *J Physiol (Lond.)* 139: 198–231.
64. Meeks JP, Mennerick S (2007) Action potential initiation and propagation in CA3 pyramidal axons. *J Neurophysiol* 97: 3460–3472.
65. Koch C (1999) *Biophysics of Computation: Information Processing in Single Neurons* Oxford University Press.
66. Mainen ZF, Joerges J, Huguenard JR, Sejnowski TJ (1995) A model of spike initiation in neocortical pyramidal neurons. *Neuron* 15: 1427–1439.
67. Trevelyan AJ, Jack J (2002) Detailed passive cable models of layer 2/3 pyramidal cells in rat visual cortex at different temperatures. *J Physiol* 539: 623–636.
68. Mejia-Gervacio S, Collin T, Pouzat C, Tan YP, Llano I, et al. (2007) Axonal speeding: shaping synaptic potentials in small neurons by the axonal membrane compartment. *Neuron* 53: 843–855.
69. Inda MC, DeFelipe J, Muñoz A (2006) Voltage-gated ion channels in the axon initial segment of human cortical pyramidal cells and their relationship with chandelier cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 2920–2925.
70. Kole MHP, Ilshner SU, Kampa BM, Williams SR, Ruben PC, et al. (2008) Action potential generation requires a high sodium channel density in the axon initial segment. *Nat Neurosci* 11: 178–186.
71. Stuart G, Schiller J, Sakmann B (1997) Action potential initiation and propagation in rat neocortical pyramidal neurons. *J Physiol* 505(Pt 3): 617–632.
72. Colbert CM, Pan E (2002) Ion channel properties underlying axonal action potential initiation in pyramidal neurons. *Nat Neurosci* 5: 533–538.
73. Leger J, Stern EA, Aertsen A, Heck D (2005) Synaptic Integration in Rat Frontal Cortex Shaped by Network Activity. *J Neurophysiol* 93: 281–293.
74. Alle H, Roth A, Geiger JRP (2009) Energy-Efficient Action Potentials in Hippocampal Mossy Fibers. *Science* 325: 1405–1408.
75. Lecar H, Nossal R (1971) Theory of threshold fluctuations in nerves. I. Relationships between electrical noise and fluctuations in axon firing. *Biophys J* 11: 1048–1067.
76. Lecar H, Nossal R (1971) Theory of threshold fluctuations in nerves. II. Analysis of various sources of membrane noise. *Biophys J* 11: 1068–1084.
77. Sigworth FJ (1980) The variance of sodium current fluctuations at the node of Ranvier. *J Physiol* 307: 97–129.
78. Verveen AA, Derksen HE (1968) Fluctuation phenomena in nerve membrane. *IEEE* 56: 906–916.
79. Fox, Lu (1994) Emergent collective behavior in large numbers of globally coupled independently stochastic ion channels. *Phys Rev E Stat Phys Plasmas Fluids Relat Interdiscip Topics* 49: 3421–3431.
80. Chow CC, White JA (1996) Spontaneous action potentials due to channel fluctuations. *Biophys J* 71: 3013–3021.
81. Brette R, Gerstner W (2005) Adaptive exponential integrate-and-fire model as an effective description of neuronal activity. *J Neurophysiol* 94: 3637–3642.
82. Jolivet R, Schürmann F, Berger TK, Naud R, Gerstner W, et al. (2008) The quantitative single-neuron modeling competition. *Biol Cybern* 99: 417–426.
83. Destexhe A, Rudolph M, Fellous JM, Sejnowski TJ (2001) Fluctuating synaptic conductances recreate in vivo-like activity in neocortical neurons. *Neuroscience* 107: 13–24.
84. Reyes AD, Fetz EE (1993) Two modes of interspike interval shortening by brief transient depolarizations in cat neocortical neurons. *J Neurophysiol* 69: 1661–1672.
85. Goodman D, Brette R (2008) Brian: a simulator for spiking neural networks in python. *Front Neuroinformatics* 2: 5.
86. Huguenard JR, Hamill OP, Prince DA (1988) Developmental changes in Na<sup>+</sup> conductances in rat neocortical neurons: appearance of a slowly inactivating component. *J Neurophysiol* 59(3): 778–95.

# A Threshold Equation for Action Potential Initiation

Jonathan Platkiewicz<sup>1,2</sup> and Romain Brette<sup>1,2</sup> (romain.brette@ens.fr)

1. Laboratoire Psychologie de la Perception, CNRS and Université Paris Descartes, Paris, France

2. Département d'Etudes Cognitives, Ecole Normale Supérieure, Paris, France

## Text S1 - Supplementary Methods

### A. Relationship between threshold definitions

To examine the relationship between threshold definitions, we consider the exponential approximation of the membrane equation:

$$C \frac{dV}{dt} = F(V) + I = g_L(E_L - V) + g_L \Delta_T e^{\frac{V-V_T}{\Delta_T}} + I$$

where  $V_T$  is the voltage threshold for slow inputs. The threshold  $\theta_q$  for fast inputs is defined with very short current pulses  $I(t) = q\delta(t)$  (where  $q$  is the total charge) as the voltage value for the threshold charge  $q_{th}$ , which is the larger voltage such that  $F(\theta_q)=0$ :

$$\frac{\theta_q - E_L}{\Delta_T} = \exp\left(\frac{\theta_q - V_T}{\Delta_T}\right)$$

which simplifies to:

$$\theta_q = V_T + \Delta_T \log\left(\frac{\theta_q - E_L}{\Delta_T}\right)$$

This relationship gives  $V_T$  as a function of  $\theta_q$ . To invert this formula, we may observe that the second term is a small correction to the threshold  $V_T$ , which suggests the following approximation:

$$\theta_q \approx V_T + \Delta_T \log\left(\frac{V_T - E_L}{\Delta_T}\right)$$

The empirical threshold measure  $\theta_e$  defined by the first derivative method ( $dV/dt=k_{th}$ ) can be related to  $V_T$  in the same way:

$$\theta_e \approx V_T + \Delta_T \log\left(\frac{V_T - (E_L + RI - \tau k_{th})}{\Delta_T}\right)$$

where  $\tau = C/g_L$  is the membrane time constant ( $R=1/g_L$  is the membrane resistance). Importantly, the corrective term depends on the total conductance, in a way that tends to increase the modulating effect of conductances on the measured threshold.

### B. Two compartments model

Here we consider a model with two compartments, representing the soma and the AIS. It is described by two equations:

$$C_{AIS} \frac{dV_{AIS}}{dt} = g_{Na}^{AIS} P_a^\infty(V_{AIS})(E_{Na} - V_{AIS}) + g_L^{AIS}(E_L - V_{AIS}) + g_c(V_{soma} - V_{AIS})$$
$$C_{soma} \frac{dV_{soma}}{dt} = g_L^{soma}(E_L - V_{soma}) + g_c(V_{AIS} - V_{soma}) + I$$

where we have neglected the Na current in the soma, because it does not play a role in spike initiation (only in the second phase of the action potential), and  $g_c$  is the coupling conductance between the two compartments. The threshold value at the AIS for slow depolarizations can be calculated similarly as in the single-compartment model, i.e., the voltage at the bifurcation point.

When  $I$  is slowly increased, both voltage derivatives are zero, so that the two equations can be written as:

$$0 = g_{Na}^{AIS} P_a^\infty(V_{AIS})(E_{Na} - V_{AIS}) + g_L^{AIS}(E_L - V_{AIS}) + g_L^{soma}(E_L - V_{soma}) + I$$

$$0 = g_L^{soma}(E_L - V_{soma}) + g_c(V_{AIS} - V_{soma}) + I$$

It appears that  $V_{soma}$  can be expressed as a linear function of  $V_{AIS}$ , so that the first equation becomes

$$0 = g_{Na}^{AIS} P_a^\infty(V_{AIS})(E_{Na} - V_{AIS}) + g_L^*(E_L^* - V_{soma}) + I^*$$

where  $g_L^* = g_L^{AIS} + g_L^{soma} \frac{g_c}{g_L^{soma} + g_c}$  and  $I^*$  and  $E_L^*$  are constants (their value is irrelevant here).

This equation is formally identical to the one obtained from a single compartment model with conductance  $g_L^*$ , which we call the *effective* leak conductance, so the threshold equation is the identical, except  $g_L$  must be replaced by  $g_L^*$ . That result can be understood intuitively as follows: if spike initiation is electrotonically far from the soma, then the coupling conductance is small and  $g_L^*$  is the leak conductance near the initiation site; if spike initiation is near the soma (which seems to be the case), then the soma and AIS are close to isopotential, so that  $g_L$  is the total conductance over the two compartments. Experimental studies have shown that spikes are initiated about 50  $\mu m$  from the soma [1, 2]. The coupling conductance is  $g_c = \frac{\pi d^2}{4R_i l}$ , where  $d \approx 1 - 2 \mu m$  is the average diameter of the AIS,  $l \approx 35 - 50 \mu m$  is its length and  $R_i \approx 100 \Omega \cdot cm$  is the intracellular resistivity, yielding  $g_c \approx 30 - 90$  nS, which is very high. Indeed, assuming the somatic surface is about 1500  $\mu m^2$  [3] and  $G_L \approx 0.1$  mS/cm<sup>2</sup>, the total somatic leak conductance is only  $g_L^{soma} \approx 1.5$  nS. Therefore, for the threshold calculation, we can assume that the soma and AIS are isopotential. However, the conductances are not homogeneously distributed on both sites, so that all conductances should be calculated as  $g = G_{soma}S_{soma} + G_{AIS}S_{AIS}$  ( $S_{soma}$  and  $S_{AIS}$  are the somatic and AIS areas, respectively), as explained in Results.

### Forward and backward propagation

The two-compartments model may be used to calculate the propagation delay between the soma and initiation site. Because of the geometrical asymmetry, the forward and backward delays are different.

Firstly, below threshold, the difference  $u = V_{AIS} - V_{soma}$  follows a linear differential equation:

$$\tau_u \frac{du}{dt} = -u - \frac{\tau_u}{CS_{soma}} I$$

where

$$\tau_u = \frac{C}{G_L + g_c \left( \frac{1}{S_{AIS}} - \frac{1}{S_{soma}} \right)} \approx \frac{CS_{AIS}}{g_c}$$

is the time constant, and  $C$  is the specific membrane capacitance (about 0.9  $\mu F/cm^2$ , Gentet et al., 2000 [4]). Using the values above, we find  $\tau_u \approx 25 - 100 \mu s$ , meaning that the voltage at the AIS follows that at the soma with a very short delay (below threshold). When a spike is initiated in the AIS and backpropagated, the characteristic time constant of the somatic membrane equation gives us the backpropagation delay (which is an integration delay):

$$\tau_{spike} = \frac{C_{soma}}{g_L^{soma} + g_c} \approx \frac{CS_{soma}}{g_c}$$

With the same parameter values as previously, we obtain  $\tau_{spike} \approx 100 - 900 \mu s$ . Palmer and Stuart (2006) reported  $\tau_{spike} = 150 \mu s$  in layer 5 pyramidal neurons [5]. An interesting point to

note is that passive forward propagation is significantly faster than action potential backpropagation, as observed experimentally, simply because the axon is smaller than the soma.

## References

1. Hu W, Tian C, Li T, Yang M, Hou H, et al. (2009) Distinct contributions of Na(v)1.6 and Na(v)1.2 in action potential initiation and backpropagation. *Nat Neurosci* 12: 996–1002.
2. Kress GJ, Mennerick S (2009) Action potential initiation and propagation: upstream influences on neurotransmission. *Neuroscience* 158: 211–222.
3. Mainen ZF, Joerges J, Huguenard JR, Sejnowski TJ (1995) A model of spike initiation in neocortical pyramidal neurons. *Neuron* 15: 1427–1439.
4. Gentet LJ, Stuart GJ, Clements JD (2000) Direct measurement of specific membrane capacitance in neurons. *Biophys J* 79: 314–320.
5. Palmer LM, Stuart GJ (2006) Site of action potential initiation in layer 5 pyramidal neurons. *J Neurosci* 26: 1854–1863.
6. Aizenman CD, Akerman CJ, Jensen KR, Cline HT (2003) Visually driven regulation of intrinsic neuronal excitability improves stimulus detection in vivo. *Neuron* 39: 831–842.



## 4.2 Effet de l'inactivation du canal sodium sur la dynamique du seuil et l'intégration synaptique



# Impact of Fast Sodium Channel Inactivation on Spike Threshold Dynamics and Synaptic Integration

Jonathan Platkiewicz<sup>1,2</sup>, Romain Brette<sup>1,2\*</sup>

**1** Laboratoire Psychologie de la Perception, CNRS and Université Paris Descartes, Paris, France, **2** Département d'Études Cognitives, Ecole Normale Supérieure, Paris, France

## Abstract

Neurons spike when their membrane potential exceeds a threshold value. In central neurons, the spike threshold is not constant but depends on the stimulation. Thus, input-output properties of neurons depend both on the effect of presynaptic spikes on the membrane potential and on the dynamics of the spike threshold. Among the possible mechanisms that may modulate the threshold, one strong candidate is Na channel inactivation, because it specifically impacts spike initiation without affecting the membrane potential. We collected voltage-clamp data from the literature and we found, based on a theoretical criterion, that the properties of Na inactivation could indeed cause substantial threshold variability by itself. By analyzing simple neuron models with fast Na inactivation (one channel subtype), we found that the spike threshold is correlated with the mean membrane potential and negatively correlated with the preceding depolarization slope, consistent with experiments. We then analyzed the impact of threshold dynamics on synaptic integration. The difference between the postsynaptic potential (PSP) and the dynamic threshold in response to a presynaptic spike defines an effective PSP. When the neuron is sufficiently depolarized, this effective PSP is briefer than the PSP. This mechanism regulates the temporal window of synaptic integration in an adaptive way. Finally, we discuss the role of other potential mechanisms. Distal spike initiation, channel noise and Na activation dynamics cannot account for the observed negative slope-threshold relationship, while adaptive conductances (e.g. K<sup>+</sup>) and Na inactivation can. We conclude that Na inactivation is a metabolically efficient mechanism to control the temporal resolution of synaptic integration.

**Citation:** Platkiewicz J, Brette R (2011) Impact of Fast Sodium Channel Inactivation on Spike Threshold Dynamics and Synaptic Integration. PLoS Comput Biol 7(5): e1001129. doi:10.1371/journal.pcbi.1001129

**Editor:** Lyle J. Graham, Université Paris Descartes, Centre National de la Recherche Scientifique, France

**Received:** July 4, 2010; **Accepted:** March 31, 2011; **Published:** May 5, 2011

**Copyright:** © 2011 Platkiewicz et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Funding:** This work was supported by the European Research Council (ERC StG 240132, <http://erc.europa.eu/>). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

\* E-mail: [romain.brette@ens.fr](mailto:romain.brette@ens.fr)

## Introduction

Action potentials are initiated when the membrane potential exceeds a threshold value, but this value depends on the stimulation and can be very variable *in vivo* [1–4], which has triggered a recent controversy about the origin of this variability [5–7]. This phenomenon has been observed in many areas of the nervous system: visual cortex [1–3], somatosensory cortex [4]; prefrontal cortex [8]; neostriatum [9], neocortex [10,11], hippocampus [12,13], and auditory brainstem [14–17]. Experimental studies have shown that the spike threshold is correlated with the average membrane potential [2,8], inversely correlated with the preceding rate of depolarization [1–4,9,12,14] and inversely correlated with the preceding interspike interval [13,18]. Thus, threshold dynamics participate in the input-output properties of neurons: it enhances coincidence detection and gain modulation properties [1,2], it contributes to feature selectivity in sensory processing [2,4,19], contrast invariance [2,20] and temporal coding [17,21,22].

Among the mechanisms that can modulate the spike threshold [23], two are thought to be especially relevant: inactivation of sodium channels [1,2,4,8,12,17] and activation of potassium channels [2,10–12,14–16]. In this study, we chose to focus on the role of sodium channel inactivation because it specifically impacts spike initiation without changing the membrane potential, and because of the extensive voltage-clamp data available for Na channels. Our first goal

was to check whether Na channel inactivation, given their measured properties, can account for significant threshold variability and for the qualitative properties of the spike threshold dynamics, as listed above. Our second goal was to evaluate the consequences of threshold dynamics on the integration of postsynaptic potentials (PSPs).

We analyzed the influence of Na inactivation on spike threshold in a model, in which we were able to express the spike threshold as a function of Na channel properties and variables [23]. We collected previously published voltage clamp measurements of Na channel properties and found that Na inactivation by itself can account for substantial threshold variability, with the same qualitative properties as experimentally observed. To investigate the implications for synaptic integration, we derived a dynamical equation for the spike threshold and defined effective PSPs as the difference between the PSP and the threshold. We found that, with threshold adaptation as implied by Na inactivation, effective PSPs are briefer than PSPs and that their shape depends on membrane depolarization. Finally, we discuss the potential contribution of other mechanisms of threshold modulation.

## Results

### The threshold equation

We previously derived a formula, the threshold equation, which relates the instantaneous value of the spike threshold to ionic



## Author Summary

Neurons spike when their combined inputs exceed a threshold value, but recent experimental findings have shown that this value also depends on the inputs. Thus, to understand how neurons respond to input spikes, it is important to know how inputs modify the spike threshold. Spikes are generated by sodium channels, which inactivate when the neuron is depolarized, raising the threshold for spike initiation. We found that inactivation properties of sodium channels could indeed cause substantial threshold variability in central neurons. We then analyzed in models the implications of this form of threshold modulation on neuronal function. We found that this mechanism makes neurons more sensitive to coincident spikes and provides them with an energetically efficient form of gain control.

channels properties [23]:

$$\theta = V_a - k_a \log \left( \frac{g_{Na} E_{Na} - V_a}{k_a} \right) - k_a \log h + k_a \log \frac{g_{tot}}{g_L}$$

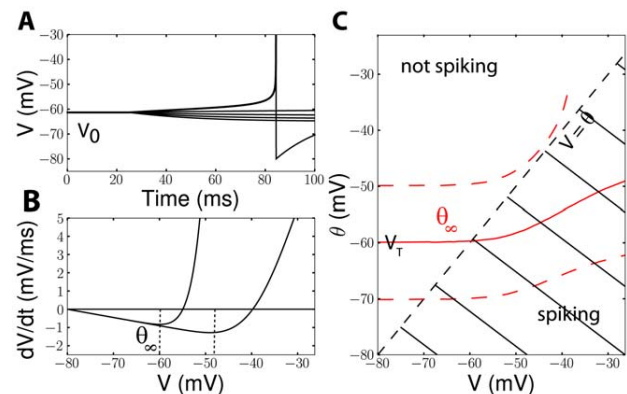
where  $V_a$  is the half-activation voltage of Na channels,  $k_a$  is the activation slope factor,  $g_{Na}$  is the total Na conductance,  $g_L$  is the leak conductance,  $E_{Na}$  is the Na reversal potential,  $h$  is the inactivation variable ( $1-h$  is the fraction of inactivated Na channels). Here the spike threshold is defined as the voltage value at the minimum of the current-voltage function in the membrane equation (we compared various threshold definitions in [23]). This formula is derived from the assumption that the Na activation curve is well described by a Boltzmann function, which implies that the Na current below spike initiation is close to an exponential function of voltage (see Text S1 for the derivation). This approximation of the Na current is the basis of the exponential integrate-and-fire model (EIF) [24]. In this paper, we focus on the impact of Na inactivation and therefore we ignore the last term of the threshold equation, which simplifies to:

$$\theta = V_T - k_a \log h$$

where  $V_T$  is a constant term, corresponding to the minimum spike threshold (when Na channels are not inactivated). We call the EIF model with Na inactivation the inactivating exponential integrate-and-fire model (iEIF; see Methods). After a spike, the voltage is reset to the resting potential  $E_L$ , and  $h$  is unchanged. Thus, when the neuron is depolarized, Na channels inactivate ( $h$  decreases) and the threshold increases: the threshold adapts to the membrane potential.

## Steady-state threshold and threshold variability

We start by studying the steady-state threshold, which is the value  $\theta_\infty(V_0)$  of the spike threshold for a fixed voltage  $V_0$ . It corresponds to the threshold measured with the following experiment. The cell is clamped at a voltage  $V_0$  (Figure 1A), and a fraction of Na channels inactivates. In the Hodgkin-Huxley formalism, this fraction is  $1-h=1-h_\infty(V_0)$ , where  $h_\infty$  is the steady-state inactivation function ( $h$  is the fraction of non-inactivated channels). If the clamp is relaxed and a current is injected, the neuron may produce a spike if the current is large enough (Figure 1A). The steady-state threshold  $\theta_\infty(V_0)$  corresponds to the maximum voltage that can be reached without triggering an action potential, and it depends on the fraction ( $1-h$ ) of inactivated Na channels: when the membrane is depolarized, Na channels inactivate, which raises the spike threshold.



**Figure 1. Steady-state threshold.** A, The membrane potential is clamped at a given voltage  $V_0$ , then a constant current  $I$  is injected (iEIF model). The steady-state threshold  $\theta_\infty(V_0)$  is defined as the maximum voltage that can be reached without triggering an action potential. B, Two excitability curves  $dV/dt = F(V, V_0)/C$  are shown in the phase plane ( $V, dV/dt$ ), for two different initial clamp values  $V_0$  (solid lines;  $V_0 = -80$  mV and  $-26$  mV). The steady-state threshold  $\theta_\infty(V_0)$  is the voltage at the minimum of the excitability curve for the initial voltage  $V_0$ . C, Steady-state threshold (red lines) of a cortical neuron model [63] for the original maximal Na conductance (solid line) and for a higher and lower Na conductance (resp. bottom and top dashed line). When the cell is slowly depolarized, it spikes when  $V = \theta_\infty(V)$ , i.e., the spike threshold is the intersection of the red and black dashed curves. If there is no intersection, the neuron cannot spike with slow depolarization. The top dashed line (low Na conductance) is interrupted because the threshold is infinite at high voltages (i.e., the cell is no longer excitable). doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.g001

One way to understand threshold adaptation is to look at how the excitability curve changes with  $h$  (and therefore with depolarization). The excitability curve (Figure 1B) shows the value of  $dV/dt$  vs.  $V$  for a fixed value of  $h$ , as given by the membrane equation (which is equivalent to the I-V curve, if the current is scaled by the membrane capacitance). When  $h$  decreases (Na channels inactivate), the entire excitability curve shifts towards higher voltages and the threshold shifts accordingly. As in [23], we define the threshold as the voltage at the minimum of the excitability curve, but since the entire curve is shifted by Na inactivation, other definitions would produce similar results.

The membrane potential  $V$  is always below threshold, unless the cell spikes. Therefore the observable threshold values cannot be larger than the intersection between the threshold curve and the diagonal line  $\theta = V$ , if these two curves intersect (Figure 1C). Thus, the spike threshold may vary between the minimum steady-state threshold  $V_T$  and the solution of  $\theta_\infty(V) = V$ . When there is no such solution, the threshold can be arbitrarily large, meaning that a very slow depolarization would not elicit a spike (Figure 1C, top dashed curve). Thus, the range of threshold variability can be derived from the steady-state threshold curve.

Using the threshold equation, we can calculate the steady-state threshold as a function of  $V$ :  $\theta_\infty(V) = V_T - k_a \log h_\infty(V)$ , where  $h_\infty(V)$  is the Na inactivation curve, which is generally well fitted by a Boltzmann function [25]:

$$h_\infty(V) = \frac{1}{1 + \exp \frac{V - V_i}{k_i}}$$

where  $V_i$  is the half-inactivation voltage, and  $k_i$  is the inactivation slope factor. When we substitute this function in the threshold

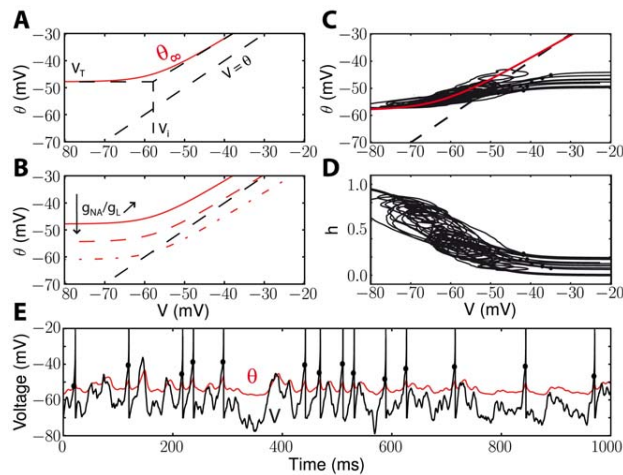
equation, we find that the steady-state threshold has a horizontal asymptote ( $V_T$ ) for large negative potentials and a linear asymptote for large positive potentials, because the inactivation function is close to exponential (Figure 2A). Thus, the steady-state threshold can be approximated by a piecewise linear function (see Text S1):

$$\theta_\infty(V) = V_T, \text{ if } V < V_i$$

$$\theta_\infty(V) = \frac{k_a}{k_i}(V - V_i) + V_T, \text{ if } V > V_i$$

In other words, the minimum threshold is  $V_T$ , which is determined by the maximum Na conductance (Figure 2B), the threshold increases above the half-inactivation voltage  $V_i$ , and the slope is the ratio of activation and inactivation slope factors. Regarding threshold variability, we can distinguish three cases, depending on Na channel properties:

- 1) if  $V_T < V_i$  then the spike threshold is constant ( $V_T$ );



**Figure 2. Role of Na channel properties in threshold variability in the iEIF model.** A, The steady-state threshold curve (red curve) is well approximated by a piecewise linear curve determined by Na channel properties (top dashed black curve), where  $V_i$  is the half-inactivation voltage and  $V_T$  is the non-inactivated threshold. The slope of the linear asymptote is  $k_a/k_i$  (resp. activation and inactivation slope parameters). Na channel properties in this figure were taken from Kuba et al. (2009). The spike threshold is variable only when  $V_i < V_T$ , and very variable when (additionally)  $k_a \geq k_i$ . B, The non-inactivated threshold  $V_T$  is determined by the maximum Na conductance  $g_{Na}$ , relative to the leak conductance  $g_L$ . As the ratio  $r = g_{Na}/g_L$  increases, the steady-state threshold curve  $\theta_\infty(V)$  shifts downward (red curves;  $r = 0.4$ ; 2; 10) and threshold variability is reduced. C, Trajectory of the model in the  $(V, \theta)$  phase plane (blue), superimposed on the steady-state threshold curve (red). Spikes are initiated when  $V > \theta$  (dashed line:  $V = \theta$ ), but the empirical measurement overestimates the threshold. The spike threshold is highly variable in this example ( $-50$  to  $-10$  mV). D, Trajectory of the model in the  $(V, h)$  phase plane (blue), superimposed on the Na inactivation curve (black). The threshold is very variable when most Na channels are inactivated. E, Voltage trace (black curve) and spike threshold  $\theta$  (red curve;  $\theta = V_T - k_a \log h$ ) in the inactivating exponential model driven by a fluctuating input (see Methods), where black dots represent empirical measurement of spike onsets (first derivative method,  $k_{th} = 5$  mV/ms). Note that the membrane potential can exceed threshold without triggering a spike because the threshold is soft (unlike in integrate-and-fire models). doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.g002

- 2) if  $V_T > V_i$  and  $k_a < k_i$ , then the threshold varies between  $V_T$  and  $(k_i V_T - k_a V_i)/(k_i - k_a)$ ;
- 3) if  $V_T > V_i$  and  $k_a \geq k_i$ , then the threshold can be arbitrarily large (that is, the neuron can be continuously depolarized without triggering spikes, as observed in some preparations [26]).

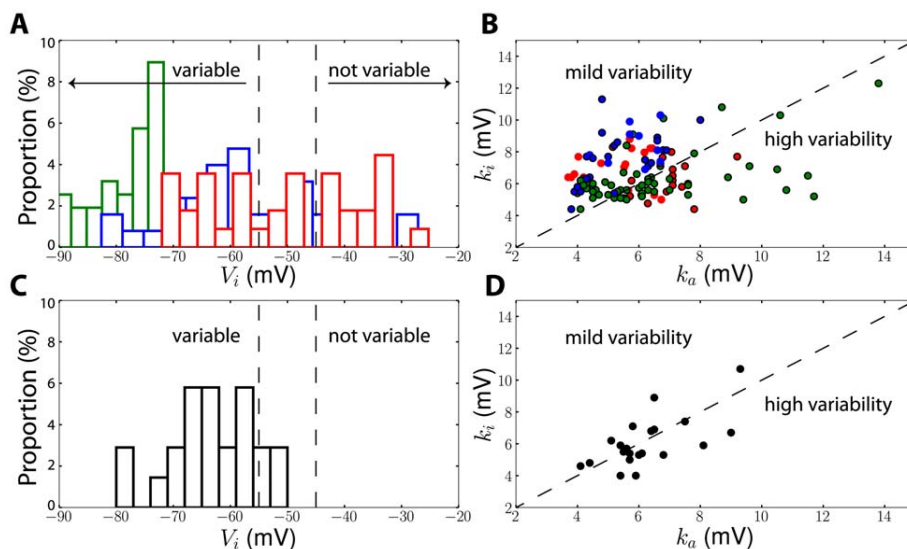
Figure 2C-E illustrates case 2 in a single-compartment model with fluctuating inputs (note that the membrane potential can exceed the threshold without triggering a spike because spike initiation is not sharp, unlike in real cortical neurons and in multicompartmental models; see the discussion in [23]). We started by examining these conditions in the dataset collected in the literature by Angelino and Brenner [25] about the properties of the 9 Nav1 channel types. These properties were obtained from voltage clamp measurements of Na channels expressed in exogenous systems. Figure 3A shows the distribution of  $V_i$  in this dataset, which is rather wide ( $-90$  mV to  $-25$  mV). Central neuron channel types, i.e., Nav1. [1,2,3,6][27], are shown in red. Since the minimum threshold  $V_T$  depends on the maximal Na conductance, it cannot be deduced from channel properties alone. Considering that  $V_T$  should lie between  $-55$  and  $-45$  mV [28], a substantial part of the channels fall into the first case, i.e., constant threshold, while the rest can fall into the second (moderate threshold variability) or third case (unbounded variability), depending on whether  $k_a > k_i$ . Figure 3B shows that, while this latter condition is never met for channel types expressed in sensory neurons (blue dots), about half of those expressed in central neurons (red) and muscles (green) satisfy  $k_a > k_i$ . Thus, it seems that all three cases occur in similar proportions for channel types expressed in central neurons.

However, not all Na channels are involved in spike initiation. In particular, in central neurons, spike initiation is mediated by Nav1.6 channels while Nav1.2 channels are involved in axonal back-propagation [8]. This first dataset contained only 4 Nav1.6 channels, for which  $V_i < -50$  mV in all cases ( $-61 \pm 8.4$  mV), suggesting significant threshold variability, but this is a small sample. Besides, this first dataset was somewhat artificial, because channels, some of which had mutations, were artificially expressed in an exogenous system, which might alter their properties. Therefore we looked at a second dataset, consisting of *in situ* measurements in intact central neurons that we collected in the literature (see Table S1). These measurements may combine the properties of several channel types expressed at the same site, e.g. Nav1.1, Nav1.2, or Nav1.6. In some of these studies, the threshold was also measured and found to be variable [8,17,29,30]. In this dataset, as shown in Figure 3C, the half-inactivation voltage was always lower than  $-50$  mV, which implies that most channels induce threshold variability (cases 2 and 3). About half of them met the condition  $k_a > k_i$  (Figure 3D). Thus, in this dataset, Na inactivation induces unbounded threshold variability in about half cases and moderate variability in the other half.

### Threshold dynamics

We have shown that Na channel properties, i.e., parameters  $V_a$ ,  $k_a$ ,  $V_i$ ,  $k_i$ , allow us to determine whether Na inactivation can make the spike threshold variable and we found that the answer is positive in central neurons. While this analysis gives an estimate of potential threshold variability, the observed variability and its properties depend on the stimulation. The instantaneous value of the spike threshold depends on the value of the inactivation variable  $h$  through the following formula [23]:  $\theta = V_T - k_a \log h$ . We now assume that  $h$  evolves according to a standard Hodgkin-Huxley equation with first order kinetics:

$$\frac{dh}{dt} = \frac{h_\infty(V) - h}{\tau_h}$$



**Figure 3. Measured properties of Na channels and threshold variability.** A, Distribution of half-inactivation voltage ( $V_i$ ) of Na channels expressed in exogenous systems (from a database of 40 Na channels reported in Angelino and Brenner, 2007 [25]), including central neuron channel types (red), sensory neuron channel types (blue) and muscular channel types (green). Assuming a minimum spike threshold between  $-55$  mV and  $-45$  mV (dashed lines), channels on the left have variable threshold while channels of the right have a constant threshold. B, Inactivation ( $k_i$ ) vs. activation slope ( $k_a$ ) for the same dataset. Channels with  $V_i < -50$  mV (variable threshold) are indicated by a black contour. These channels have high threshold variability when  $k_a > k_i$  (right of the dashed line). C, Distribution of  $V_i$  for Na channels expressed in central neurons *in situ* (see Table S1). The threshold should be variable in most cases. D, Inactivation ( $k_i$ ) vs. activation slope ( $k_a$ ) for the same dataset. High threshold variability is predicted in about half cases.

doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.g003

where  $\tau_h$  is the inactivation time constant. By differentiating the threshold equation and substituting the differential equation for  $h$ , we obtain a differential equation for  $\theta$  as function of the membrane potential (see Text S1 A), which can be approximated by:

$$\tau_\theta \frac{d\theta}{dt} = \theta_\infty(V) - \theta$$

with  $\tau_\theta = \tau_h$ . To simplify the calculations, we assume in the following that the inactivation time constant  $\tau_h$  does not vary significantly with  $V$ , but we examine the effect of this voltage-dependence later. This equation describes how the threshold changes with the membrane potential, and therefore with the stimulation, and is entirely determined by Na channel properties. Since the steady-state threshold  $\theta_\infty(V)$  increases with  $V$  (Figure 2), it appears that the threshold adapts to the membrane potential with characteristic time  $\tau_\theta$ . Thus, we readily see that 1) the threshold increases with the membrane potential and 2) the threshold is lower for faster depolarization, because it has less time to adapt to the membrane potential.

Before we describe threshold dynamics in more details, we need to make an important remark. As is seen in Figure 2E, which describes the dynamics of an iEIF model with fluctuating inputs, the membrane potential can exceed the threshold without triggering a spike, if the fluctuation is fast enough. This reflects the fact that spike initiation in this model, as in any biophysical single-compartment model, is not sharp: since there is no well-defined voltage threshold, what we describe as threshold variations are more accurately described as voltage shifts of the excitability curve. This makes the definition of a dynamic threshold a little ambiguous. However, spike initiation in cortical neurons is much sharper than in single-compartment models [5], because of the active backpropagation of spikes from the initiation site [6]. A

direct *in vitro* measurement of the slope factor in cortical neurons (characterizing spike sharpness) gave  $\Delta_T \approx 1$  mV [18] (compared to  $k_a \approx 6$  mV), meaning that spike initiation is almost as sharp as in an integrate-and-fire model. This phenomenon is well captured by multicompartmental models [8,23] and it affects spike sharpness independently of threshold variability: in Figure 7H of ref. [23], spikes are initiated as soon as the membrane potential exceeds the dynamic threshold, which is determined according to the threshold equation. This motivates us to introduce a new model, the inactivating integrate-and-fire model (iLIF, see Methods), which is simply an integrate-and-fire model with an adaptive threshold given by the differential equation above (after a spike, the voltage is reset to the resting potential  $E_L$ , and the threshold is increased - see Methods). This phenomenological model is not only simpler, but also seemingly more realistic than the iEIF model for the present problem, in that it reproduces both the sharpness of spike initiation and the variability of spike threshold. We use this model in the remainder of this paper.

The threshold also increases with each action potential [23] (see also Text S1 A), as was recently demonstrated *in vitro* [18]. This can be described as simple additive shift:  $\theta \rightarrow \theta + (\delta t / \tau_h^*) k_a$ , where  $\tau_h^*$  is the average value of the time constant  $\tau_h(V)$  during the action potential and  $\delta t$  is the spike duration (typically, a few ms). If the inactivation time constant is short compared to the typical interspike interval, then this shift results in a relative refractory period, but has negligible influence on the subsequent dynamics of the model. If it is long, it results in spike-frequency adaptation and explains *in vivo* observations where the threshold was found to be inversely correlated with the previous interspike interval [13]. This phenomenon can be seen in the noise-driven iLIF model when Na inactivation is slow (not shown). In the following, we focus on the impact of fast Na inactivation.

Quantitatively, the relationship between average membrane potential and threshold depends on the steady-state threshold

function  $\theta_\infty(V)$ . Figure 4 shows this relationship in a neuron model with adaptive threshold (defined by the dynamical equation above) and fluctuating inputs of varying mean. As expected, the average threshold increases with the average membrane potential, and the slope is steeper above half-inactivation voltage  $V_i$ . In these simulations, the slope of the steady-state threshold curve was  $k_a/k_i = 1$ , close to experimental values, but we note that the average threshold only increases as about 2/3 the average membrane potential in the depolarized region. This is because the membrane potential is very variable (about 6 mV in this figure) and therefore the threshold is not constantly in the sensitive region ( $V > V_i$ ). This is consistent with previous measurements in the visual cortex *in vivo*, where Azouz and Gray (2003) found a linear correlation with a slope of 0.5.

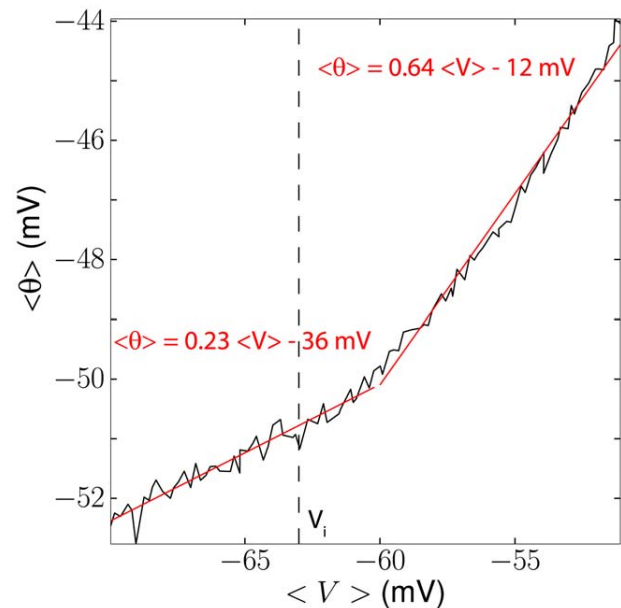
To calculate the relationship between the slope of depolarization and the threshold, we consider a linear depolarization with slope  $s$  (i.e.,  $V(t) = V_0 + st$ ) and calculate the intersection with the threshold  $\theta(t)$  (Figure 5A). By linearizing the steady-state threshold  $\theta_\infty(V)$  as previously described, we find that the slope  $s$  and the threshold  $\theta$  are related by the following equation (see Methods):

$$\theta = V_i - s\tau_\theta \log \frac{(1 - k_a/k_i)\theta + k_a/k_i(s\tau_\theta + V_i) - V_T}{k_a/k_i s\tau_\theta}$$

Unfortunately, this implicit equation does not give a closed formula for  $\theta$  as a function of  $s$ , except when  $k_a = k_i$ :

$$\theta = V_i - s\tau_\theta \log \left( 1 + \frac{V_i - V_T}{s\tau_\theta} \right)$$

In this particular case, the threshold diverges to infinity at  $s^* = (V_T - V_i)/\tau_\theta$ , i.e., no spike is produced if the depolarization is slower than  $s^*$  (Figure 5B, dashed line). This phenomenon can occur more generally when  $k_a \geq k_i$  (unbounded variability, case 3) and has been observed in neurons of the cochlear nucleus [16] (where it is described as a "rate threshold"). In all cases, for large  $s$  (fast depolarization), the threshold  $\theta$  tends to  $V_T$ , i.e., to the lowest possible threshold, and it increases for smaller  $s$ , i.e., slow depolarization (Figure 5B, solid line). The equations show that the slope-threshold relationship depends on the half-inactivation voltage  $V_i$  and on the threshold time constant  $\tau_\theta$  ( $= \tau_h$ ). The relationship is more pronounced when  $V_i$  is low compared to the minimum threshold  $V_T$  (Figure 5C;  $V_T$  was  $-55$  mV). The role of the threshold time constant can be seen as a scaling factor for slopes, i.e., the threshold depends on the product  $s\tau_\theta$  of the slope and threshold time constant. The slope-threshold relationship is more pronounced when the threshold time constant is short (Figure 5D). In experiments *in vivo*, the slope-threshold relationship was measured using linear regression on the membrane potential preceding each spike [2,4]. We simulated the adaptive threshold model with a fluctuating input (Figure 5E) and performed a similar analysis, by calculating the depolarization slopes over a duration equal to the threshold time constant. The resulting slope-threshold relationship matches our previous calculation (which only uses Na channel properties), but with more variability (Figure 5F), as is also observed in experiments. Finally, we measured the slope-relationship in the multicompartmental model of Hu et al. [8] with fluctuating inputs, for which we previously showed that the threshold equation accurately predicted the measured threshold [23]. The slope-threshold relationship also matched our prediction (Figure S1).



**Figure 4. Predicted relationship between mean membrane potential and mean threshold.** We simulated the iLIF model (see Methods) with a fluctuating input current. The standard deviation was fixed while the mean current was varied between trials. The mean spike threshold ( $\langle\theta\rangle$ ) is plotted as a function of the mean membrane potential ( $\langle V \rangle$ ). The slope of the curve is larger above half-inactivation voltage  $V_i$  (0.64 from linear regression, red line) than below (0.23). doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.g004

### Threshold variability with fluctuating inputs

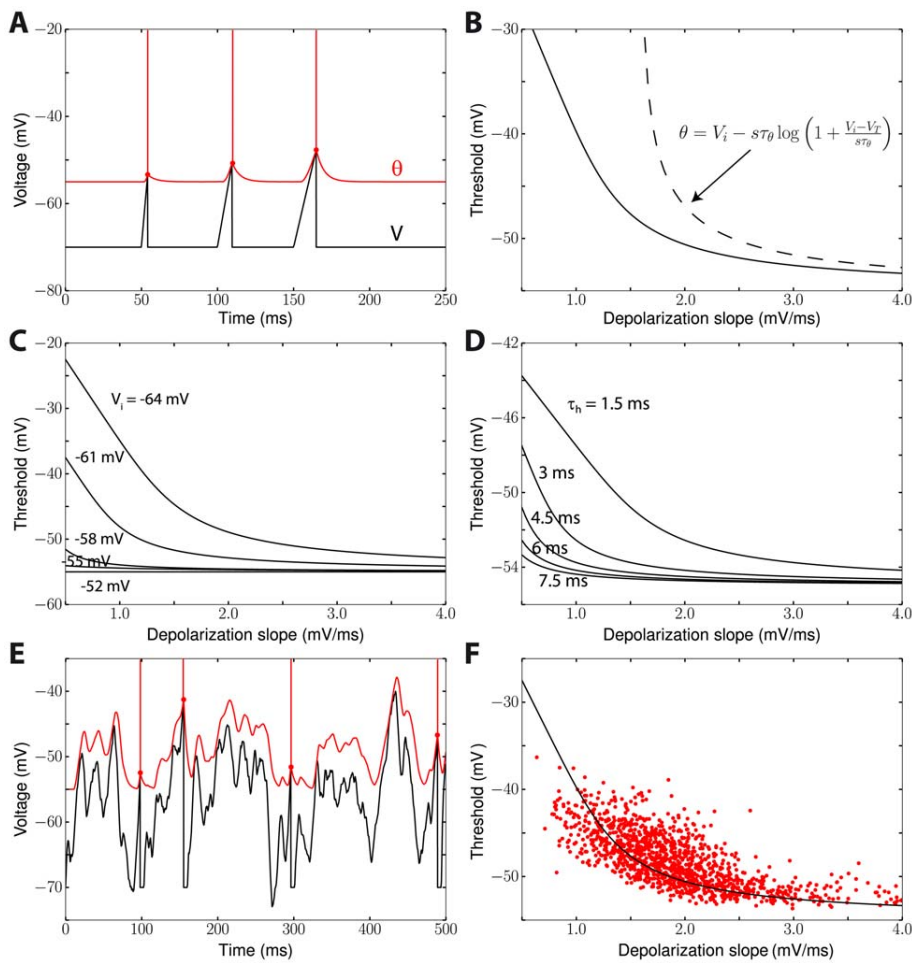
These dynamical properties of the threshold imply that the threshold should be variable for fluctuating inputs (typical of *in vivo* regimes) but not for constant DC inputs (typical of *in vitro* stimulations). More generally, it implies that the threshold distribution depends on the membrane potential distribution, as shown in Figure 6 with a neuron model with adaptive threshold driven by fluctuating inputs with different statistics. The average threshold depends mainly on the average membrane potential (Figure 6A), but the standard deviation is correlated with both the average and the standard deviation of the membrane potential (Figure 6B). This could underlie the observed difference in threshold variability between spontaneous activity ( $\langle\sigma\rangle = 1.4$  mV) and visual responses ( $\langle\sigma\rangle = 2.3$  mV) [1], because in visual responses the membrane potential is presumably both more depolarized and more variable. Interestingly, fast spiking cells showed lower threshold variability together with a lower mean threshold, which is also consistent with our results.

### Implications for synaptic integration

These results have two main implications for synaptic integration: 1) threshold adaptation reduces the impact of the input mean, relative to its variance, and 2) the negative correlation between threshold and depolarization rate shortens the timescale of synaptic integration.

**Sensitivity to the mean and variance of inputs.** When  $V > V_i$ , the steady-state threshold increases with the voltage (Figure 2A), with a slope close to 1. As a result, when the neuron is driven by a fluctuating input (such as a sum of random synaptic currents), the average threshold increases with the average membrane potential, as shown in Figure 4. Because the slope of this relationship is close to 1 ( $k_a \approx k_i$ ), the average difference between the instantaneous value of the threshold and the





**Figure 5. Slope-threshold relationship in the adaptive threshold model.** A, The neuron is linearly depolarized with a given slope  $s$  ( $V(t) = E_L + st$ ) until the membrane potential (black) reaches threshold (red) and the neuron spikes. The intersection of the black and red traces (red dots) can be calculated (see Results). B, Threshold vs. depolarization slope (solid line) and analytical formula when  $k_a = k_i$  (dashed line). C, Slope-threshold relationship for different values of the half-inactivation voltage  $V_i$  ( $V_i = -63$  mV in panels A,B). D, Slope-threshold relationship for different values of the inactivation time constant ( $\tau_h = 5$  ms in panels A,B). E, The iLIF model is driven by a fluctuating current and we measure the slope of depolarization before each spike over a duration  $\tau_h = 5$  ms by linear regression. F, Slope-threshold relationship measured with linear regression in the noise-driven iLIF model (red dots), superimposed on the calculated relationship from panel B.  
doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.g005

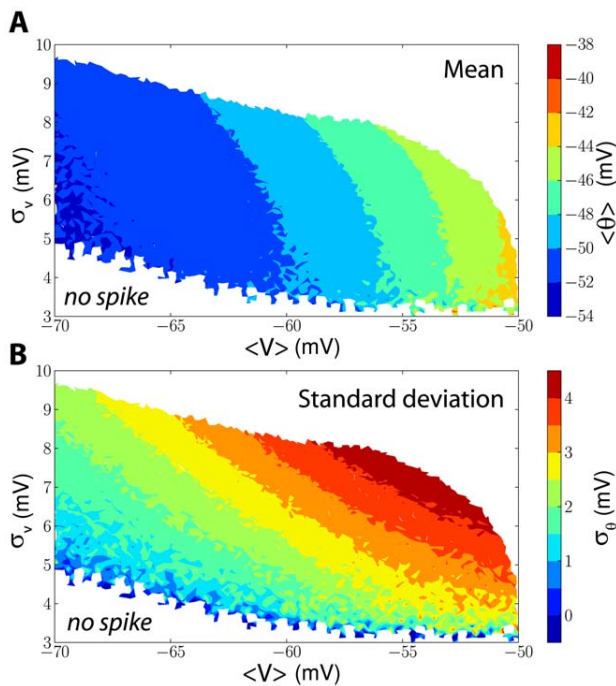
membrane potential should be nearly constant above  $V_i$ :  $\Delta V \approx V_T - V_i$ . Thus, we expect that the mean of the input should have little impact on postsynaptic firing, while it should be more sensitive to its variance. Figure 7 shows the results of simulations where fluctuating currents with varying mean and variance were injected into a neuron model with adaptive threshold. When the threshold does not adapt, the output firing rate is sensitive both to the mean and the variance of the input (Figure 7A, mixed line, and Figure 7B). When the mean is above threshold ( $-55$  mV in Figure 7), the firing rate is mostly determined by the mean. However, as threshold adaptation is increased (Figure 7A, dashed and solid lines, and Figure 7C,D), the firing rate becomes less and less sensitive to the input mean and relatively more sensitive to the variance. When threshold adaptation parameters correspond to experimentally measured properties of Na channels ( $k_a \approx k_i$ ), the firing rate is mostly sensitive to the input variance, although the mean input still plays a role. Thus, by maintaining a constant difference between average potential and threshold, Na channel inactivation acts as a homeostatic mechanism.

**Timescale of synaptic integration.** It was remarked in previous studies that the negative relationship between threshold and depolarization rate should make the neuron more sensitive to coincidences [2,4], because depolarization is faster and thus threshold is lower for coincident inputs. We make this remark more precise by looking at *effective* PSPs, defined as the difference between the PSP and the dynamic threshold (Figure 8). Consider a neuron model in which the membrane potential is described by a sum of PSPs:

$$V(t) = V_0 + \sum_{i,k} PSP_i(t - t_i^k)$$

where  $PSP_i$  is the PSP at synapse  $i$  and  $t_i^k$  is the timing of the  $k^{th}$  spike received at synapse  $i$ . If we approximate threshold dynamics by a linear differential equation (when  $V > V_i$ ), then the threshold  $\theta(t)$  is a low-pass filtered version of  $V(t)$ :

$$\theta(t) = \theta_0 + \sum_{i,k} L * PSP_i(t - t_i^k)$$



**Figure 6. Threshold distribution as a function of membrane potential statistics.** An iLIF model was stimulated by fluctuating inputs with different means and standard deviations and the threshold distribution was measured. A, Average threshold (color-coded) as a function of the mean ( $\langle V \rangle$ ) and standard deviation ( $\sigma_v$ ) of the membrane potential. The average threshold depends primarily on the average membrane potential. White areas correspond to parameter values that were not tested (top) or that elicited no spike (bottom). B, Standard deviation of the threshold as a function of membrane potential statistics. Threshold variability depends on both the average and the standard deviation of the membrane potential. doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.g006

where  $L$  is a first-order low-pass filter with time constant  $\tau_\theta$  (i.e., cutoff frequency  $1/(2\pi\tau_\theta)$ ), i.e.:

$$(L * V)(t) = \frac{a}{\tau_\theta} \int_0^\tau e^{-\frac{s}{\tau_\theta}} V(t-s) ds$$

where  $a = \frac{\partial \theta_\infty}{\partial V} \approx k_a/k_i$ . This model with adaptive threshold is equivalent to a model with fixed threshold  $\theta_0$ , where the voltage is defined by  $u = V - \theta + \theta_0$ , i.e., relatively to the threshold. In this equivalent model, the voltage reads:

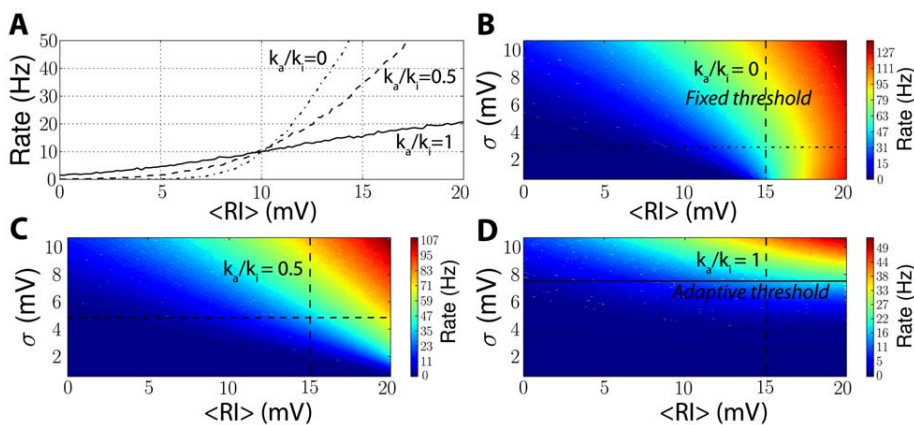
$$u(t) = V_0 + \sum_{i,k} (PSP_i - L * PSP_i)(t - t_i^k)$$

Thus, it is a linear superposition of *effective* PSPs (ePSPs), defined as the difference between the PSP and the threshold PSP (effect of PSP on threshold):

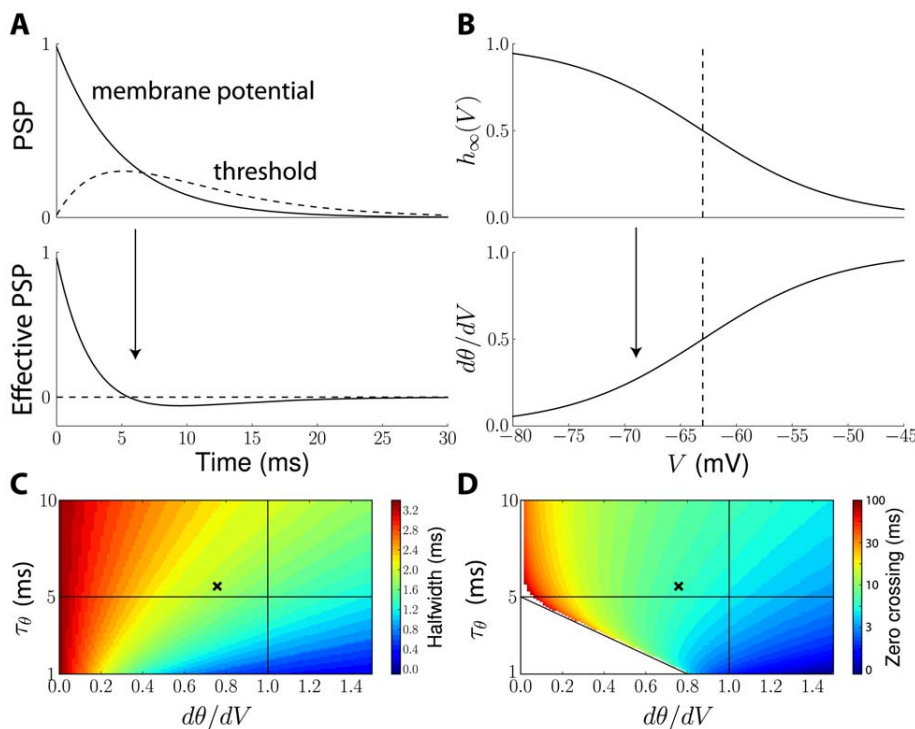
$$u(t) = V_0 + \sum_{i,k} ePSP_i(t - t_i^k)$$

where  $ePSP_i = PSP_i - L * PSP_i$  is the effective PSP at synapse  $i$ . This equivalent model has exactly the same form as the initial model (superposition of PSPs), the only difference being that PSPs are replaced by effective PSPs with a different shape. This is illustrated in Figure 8A.

In other words, threshold adaptation acts as a simultaneous inhibition with slower time constant (than the excitatory PSP), or as a simultaneous excitation for inhibitory PSPs. As a result, the temporal width of effective PSPs is smaller than that of PSPs, so that the timescale of synaptic integration is shorter (Figure 8A,C; see also Text S1 B for analytical calculations). Far from  $V_i$ , i.e., when the threshold varies linearly with the membrane potential, the threshold PSP is proportional to  $k_a/k_i$ , which is close to 1 in



**Figure 7. Firing rate as a function of input statistics.** An iLIF model was simulated in the same way as in Figure 6, but with different values for the parameter  $k_a/k_i$ , which controls threshold adaptation. A, Output firing rate vs. mean input with threshold adaptation (solid line,  $k_a/k_i = 1$ ), with mild threshold adaptation (dashed line,  $k_a/k_i = 0.5$ ) and without threshold adaptation (mixed line,  $k_a/k_i = 0$ ). The horizontal axis is the input resistance  $R$  times the mean input  $\langle I \rangle$ , i.e., the mean depolarization in the absence of spikes. The input standard deviation was chosen so that the neuron fires at 10 Hz when the mean depolarization is 10 mV. B, Firing rate (color-coded) vs. mean and standard deviation of the input, without adaptation ( $k_a/k_i = 0$ ). The standard deviation is shown in voltage units to represent the standard deviation of the membrane potential in the absence of spikes, i.e.,  $\sigma = R\sigma_I \sqrt{\frac{\tau_I}{\tau_I + \tau}}$ , where  $\sigma_I$  is the input standard deviation (in current units) and  $\tau_I$  is the input time constant. The horizontal mixed line corresponds to the mixed line shown in panel A, and the vertical dashed line corresponds to the threshold for constant currents. C, Same as B, but with mild threshold adaptation ( $k_a/k_i = 0.5$ ). D, Same as B, but with normal threshold adaptation ( $k_a/k_i = 1$ ). doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.g007



**Figure 8. The effective postsynaptic potential.** A, Top: Normalized postsynaptic potential (PSP, solid line) and threshold PSP, i.e., effect of the PSP on the threshold (dashed line). Bottom: The effective PSP is the difference between the PSP and the threshold PSP. It is briefer and can change sign. B, The effect of the PSP on spike threshold depends on how the threshold changes with voltage ( $d\theta/dV$ , bottom), which depends on the membrane potential  $V$  and is determined by the Na inactivation curve (top; dashed line: half-inactivation). At high voltage,  $d\theta/dV = k_a/k_i$  ( $= 1$  here). C, Half-width of the effective PSP (color-coded) as a function of threshold sensitivity  $d\theta/dV$  and the threshold time constant  $\tau_\theta$ . The black cross corresponds to the situation shown in panel A. The membrane time constant ( $\tau = 5$  ms) is shown by a horizontal solid line. D, Zero crossing time of the effective PSP as a function of threshold sensitivity and threshold time constant. The white triangle corresponds to parameter values where the effective PSP is always positive.

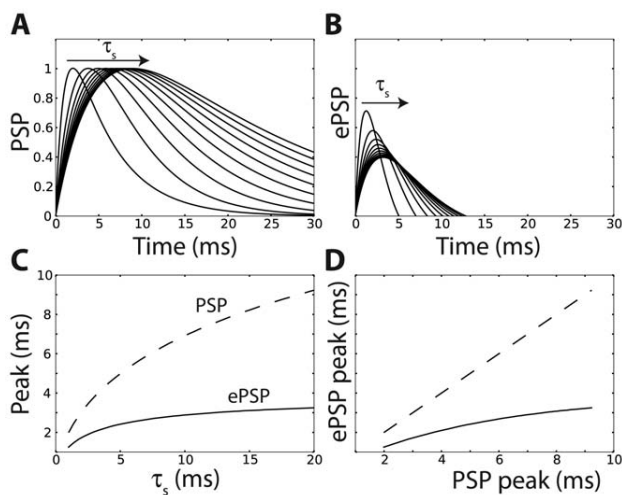
doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.g008

experimental measurements. Closer to  $V_i$ , the threshold PSP is proportional to  $d\theta/dV$ , which lies between 0 and  $k_a/k_i$  (Figure 8B). This means that threshold adaptation increases when the neuron is more depolarized, so that effective PSPs become sharper. This property is shown in Figure 8C, where the half-width of effective PSPs is seen to depend on the threshold time constant (sharper effective PSPs for shorter time constants) and on threshold sensitivity  $d\theta/dV$ , i.e., indirectly on depolarization. In all cases, effective PSPs are always sharper than PSPs. For example, when the threshold time constant equals the PSP time constant and the neuron is depolarized well above  $V_i$  (with  $k_a = k_i$ ), threshold adaptation reduces the half-width of the PSP by a factor greater than 2 (intersection of the two lines in Figure 8C). In some cases, the effective PSP may change sign, as shown in Figure 8A (bottom). This occurs when the threshold time constant or the threshold sensitivity is large (Figure 8D). In the case of exponentially decaying PSPs, this condition can be analytically calculated (see Text S1 B):  $\tau_\theta > \tau_m(1 - d\theta/dV)$ . This property implies that inhibitory PSPs may trigger delayed spikes because of threshold adaptation, which we discuss below.

Similar properties are seen when synaptic filtering is taken into account, that is, when the synaptic current is an exponentially decaying function rather than an instantaneous pulse (Dirac), giving biexponential PSPs (Figure 9A). As previously, effective PSPs are briefer and can change sign (Figure 9B). A new property can be observed: the peak time is shorter for ePSPs than for PSPs. This could not be seen with exponential PSPs since in that case both the

PSP and the ePSP peak at 0 ms. With synaptic filtering, ePSPs peak earlier and at a smaller value. The peak time of the PSP increases with the time constant of synaptic filtering, but threshold adaptation makes ePSPs not only briefer but also less sensitive to the filtering time constant (Figure 9C,D). This phenomenon was recently demonstrated in neurons of the medial superior olive (MSO), a structure involved in the computation of interaural time differences, a cue to the azimuth of a sound source [31]. These neurons detect coincidences between inputs from the contralateral side and from the ipsilateral side. It was found that PSPs from the contralateral side peak about 500  $\mu$ s later than those from the ipsilateral side, and are also shallower, which makes coincidence detection problematic (the required precision is about a few tens of microseconds). But threshold adaptation reduces the peak time of the shallower contralateral PSP, so that PSPs from both sides have similar latency. Another interesting consequence of the compression of peak times by threshold adaptation is that it also minimizes the impact of dendritic propagation on the effective latency of PSPs.

As is illustrated in Figure 10A, the reduction of PSP width makes the neuron more sensitive to coincidences at the timescale of threshold dynamics, i.e., of Na inactivation. This property only arises when the neuron is sufficiently depolarized, i.e., when  $V > V_i$  (Figure 10B). In high-conductance states that are typical of *in vivo* activity [32,33], the mean membrane potential is depolarized, typically around  $-60$  mV, which is slightly higher than the average  $V_i$  in the dataset of Na channels in central neurons *in situ* ( $V_i \approx -63$  mV; Figure 3C). Thus, neurons *in vivo* should be more



**Figure 9. Effective postsynaptic potential with synaptic filtering.** A, Normalized biexponential PSPs obtained with non-instantaneous synaptic currents (i.e., postsynaptic currents are exponentially decaying with time constant  $\tau_s$  between 1 ms and 20 ms). B, As for exponential PSPs (Figure 8), effective PSPs (ePSPs) are narrower and change sign (only the positive part is shown). The time to peak is also shorter. Threshold adaptation parameters were  $\tau_\theta = 3$  ms and  $d\theta/dV = 1$ . C, The peak time increases with the synaptic filtering time constant  $\tau_s$ , but less rapidly for ePSPs than for PSPs. D, ePSP peak time vs. PSP peak time. Threshold adaptation makes peak times shorter and compressed.  
doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.g009

sensitive to coincidences at the timescale of Na inactivation. This comes in addition to the fact that the membrane time constant is about 5 times shorter *in vivo* than *in vitro* because of increased total conductance [34,35]. More precisely, the shape of effective PSPs depends on depolarization: as the neuron is more depolarized, the fast component of the effective PSP (which decays with time constant  $\tau_\theta$ ) becomes more dominant, so that the neuron becomes more sensitive to fine correlations (Figure 8C).

For inhibitory PSPs (IPSPs), threshold adaptation is equivalent to simultaneous excitation with a slower time constant. Thus, in some cases, the later part of the effective PSP can be positive (Figure 8D), and therefore an IPSP can trigger a spike (Figure 10C). This phenomenon is generally called postinhibitory facilitation. It has been previously observed in different systems, and can be mediated by other mechanisms than Na inactivation [36,37]. Figure 10C shows an example of postinhibitory facilitation due to Na inactivation, where a slow depolarization fails to trigger a postsynaptic spike but additional IPSPs do.

Finally, while we have previously ignored the voltage dependence of the time constant of Na inactivation, we show in Figure 10D how it affects synaptic integration. The time constant decreases when the neuron is depolarized above  $V_i$  (see Methods), which reduces the half-width of effective PSPs (Figure 8C,D). This property was termed *adaptive coincidence detection* in previous experimental studies [2].

## Discussion

Based on voltage clamp measurements of Na channel properties, we have found that Na inactivation can produce by itself large threshold variability, as observed in experiments *in vivo* [1–4]. Our analysis led us to a simple theoretical criterion on Na channel properties ( $V_T > V_i$  for moderate variability and  $k_a \geq k_i$  for unbounded variability). Threshold dynamics are then inherited from the dynamics of Na inactivation, which implies that the threshold adapts to the membrane potential. As

a consequence, the threshold is correlated with the preceding membrane potential and inversely correlated with the depolarization rate. Both properties were observed in experiments and the quantitative relationships are close to what we predict from the properties of Na inactivation. Our analysis also provides a simple adaptive equation which describes threshold dynamics.

The criterion for large threshold variability ( $k_a \geq k_i$ ) depends on the precise values of the half-activation ( $k_a$ ) and half-inactivation voltages ( $k_i$ ), obtained from Boltzmann fits. However, the relevant voltage range for these fits is the spike initiation range, and reported experimental values generally correspond to fits over the entire voltage range. This could contribute a significant measurement error in these values, as we previously showed [23]. Another potential source of error is the overlap between activation and inactivation. If the inactivation time constant is very short (comparable to the activation time constant), then voltage-clamp measurements tend to overestimate  $k_a$  [23]. Thus, there is some uncertainty about the precise value of  $k_a/k_i$  in Na channels.

One consequence of threshold adaptation is to reduce the sensitivity of neurons to their mean input, and to make them more sensitive to fluctuations. *In vitro*, Arsiero et al. [38] indeed observed that pyramidal cells of the prefrontal cortex were very sensitive to the variance of their inputs, even when the mean was high. *In vivo*, Ringach and Malone [39] described the responses of neurons of the primary visual cortex as linear filtering of the visual input followed by (stochastic) spiking when a threshold was exceeded. They found that the threshold (defined on an abstract variable) adapted to the input statistics, so that neurons responded only to positive fluctuations above the mean.

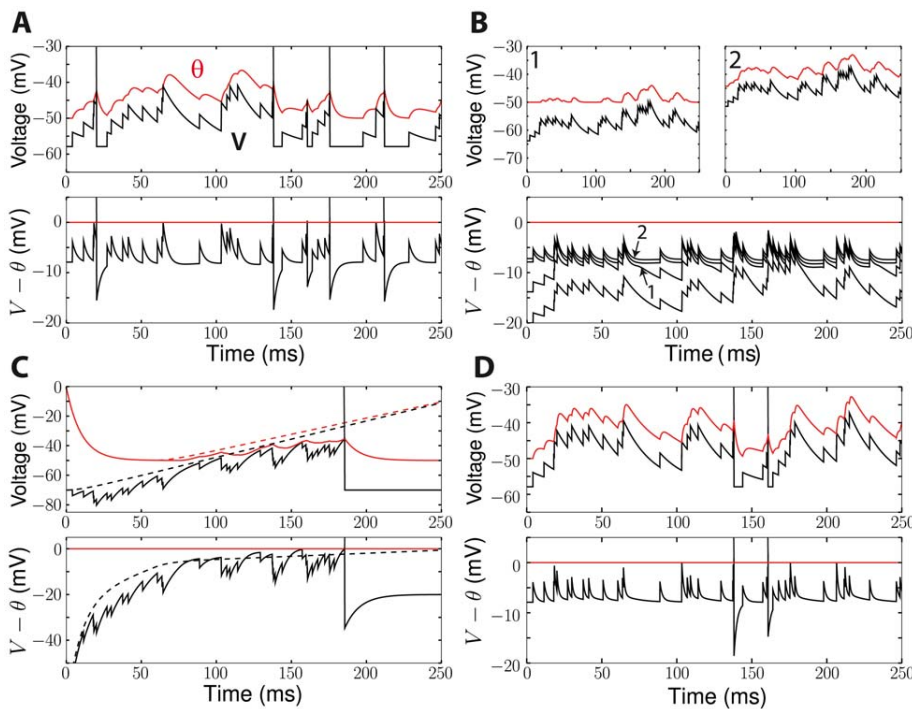
Threshold adaptation implies that a presynaptic spike has an effect on both the membrane potential (the classical PSP) and the spike threshold. We defined an *effective PSP* by subtracting the threshold effect from the PSP. Thus, a neuron model with adaptive threshold where the membrane potential is a sum of PSPs is equivalent to a model with fixed threshold where the potential is a sum of effective PSPs. We found that effective PSPs were briefer than PSPs, which makes neurons more sensitive to input correlations at the timescale of Na inactivation. The effect of threshold adaptation can be understood as simultaneous inhibition for EPSPs and simultaneous excitation for IPSPs. These effective PSPs become briefer as the neuron is more depolarized, which can be seen as a form of adaptive coincidence detection: as the neuron is more depolarized, it requires more precisely coincident inputs to fire. This suggests that the effective integration time constant of neurons might be even shorter *in vivo* than expected from conductance measurements [34] because neurons are significantly depolarized in high conductance states [33]. A similar sharpening effect was recently found with Kv1 channels in neurons of the medial superior olive (MSO) [40]; a linear treatment of temporal sharpening by active conductances along dendrites was also recently done [41] (although independently of threshold properties).

Although Na channel inactivation can account for all the properties that have been experimentally observed, other mechanisms could potentially contribute to threshold variability: somatic measurement when spikes are initiated in the axon, channel noise and other ionic mechanisms. We discuss below these alternative mechanisms and evaluate whether they may account for threshold adaptation.

## Remote spike initiation

A recent debate about the validity of the Hodgkin-Huxley model for cortical neurons has highlighted the fact that, for central neurons, spikes are initiated in the axon while *in vivo* measurements of the spike threshold were done at the soma, which could be an artifactual cause of threshold variability [5–7]. However, it is unclear





**Figure 10. Synaptic integration with adaptive threshold.** A, The iLIF model was simulated with random inputs (exponentially decaying PSPs), temporally distributed according to a Poisson process. Top: Spikes are produced when the membrane potential  $V$  (black) exceeds the threshold  $\theta$  (red). Bottom: This is equivalent to a model with fixed zero threshold (red) and potential  $V - \theta$  (black), which is the sum of effective PSPs. Effective PSPs are sharper than PSPs. B, Top: The threshold is more adaptive when the neuron is depolarized (right) than near resting potential (left). Bottom: When the mean input is increased (4 different levels shown), effective PSPs become sharper and their negative part cancels the input mean (see Figure 8). C, Random inhibitory PSPs are added to a depolarizing current ramp. Without inhibitory inputs (dashed), the threshold adapts and the neuron does not spike. With inhibitory inputs (solid), the sign change in effective PSPs (see Figure 8) acts as a rebound and triggers spikes. This phenomenon is often called postinhibitory facilitation [36]. D, When the voltage dependence of the Na inactivation time constant is taken into account (see Methods), effective PSPs become sharper as the neuron is more depolarized, which implies an adaptive coincidence detection property [2]. doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.g010

whether distal initiation could account for the inverse correlation between the threshold and the preceding slope of depolarization.

To address this question, we consider a simplified situation where spikes are initiated in the axon hillock when the potential is above a fixed threshold  $V_T$  (Figure 11A). Suppose the membrane potential increases linearly in the soma (blue line) and spreads to the spike initiation site with a delay  $\tau_f$  (black line). A spike is initiated when the propagated potential reaches threshold (dashed red line), and backpropagated to the soma with a delay  $\tau_b$ . As a result, the spike “threshold” (in fact, spike onset) is higher when measured at the soma, by an amount of  $(\tau_f + \tau_b)s$ , where  $s$  is the slope of depolarization. This has two consequences: 1) threshold variability is increased for fluctuating inputs, 2) the threshold is *positively* correlated with the slope of depolarization. Based on passive cable properties, the forward delay can be estimated as  $\tau_f = \frac{CS_{axon}}{g_c} \approx 25 - 100 \mu s$  and the backward delay as  $\tau_b = \frac{CS_{soma}}{g_c} \approx 100 - 900 \mu s$ , where  $C$  is the specific membrane capacitance,  $S_{axon}$  (resp.  $S_{soma}$ ) is the membrane surface of the spike initiation site (resp. soma) and  $g_c$  is the coupling conductance between the two sites [23]. Considering active conductances would reduce these values, but these estimations are already close to experimental measurements [42]. Thus, the total delay (forward + backward) is smaller than 1 ms.

We confirmed this reasoning by simulating the response of the multicompartmental model of Yu et al. (2008) [7] to fluctuating inputs

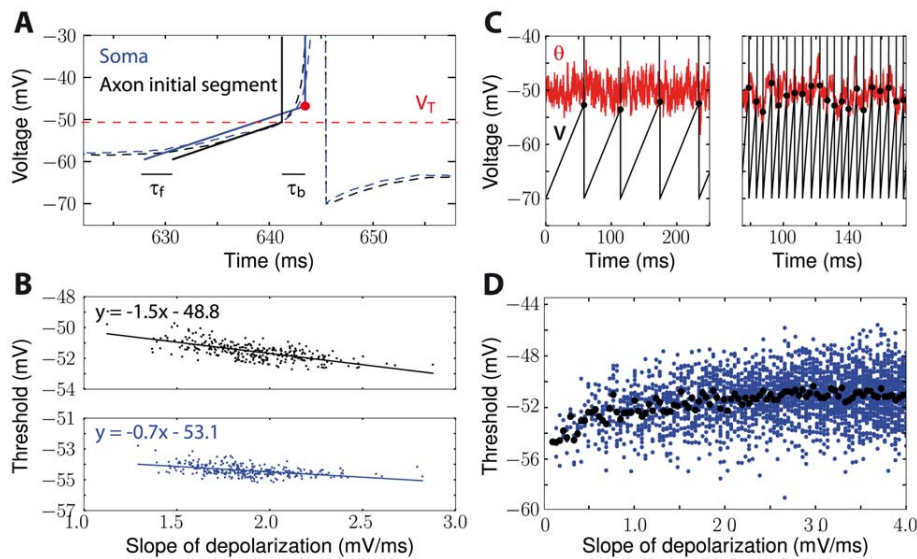
and measuring the slope-threshold relationship both at the soma and at the axon initial segment (AIS) (Figure 11B). As we expected, we found that this relationship was more pronounced at the AIS than at the soma, meaning that the net effect of backpropagation is a positive correlation between slope and threshold. More precisely, the net effect corresponds to a total delay of  $\tau_f + \tau_b = 0.8 ms$  (difference between the two slopes of the linear regressions), in accordance with the estimation above. Thus, since distal spike initiation predicts the opposite relationship between depolarization rate and threshold than experimentally observed, it cannot be the dominant cause of threshold variability and cannot account for the properties of threshold dynamics.

### Channel noise

The Hodgkin-Huxley formalism describes the dynamics of the macroscopic average of many sodium channels, but individual channels have stochastic dynamics [43,44]. It results in threshold variability which is not significantly correlated with input properties [45,46,43,47,48]. As previously, we examine whether this mechanism may account for the slope-threshold relationship in a simplified model. We consider an integrate-and-fire model with a threshold that fluctuates randomly, according to an Ornstein-Uhlenbeck process:

$$\tau_\theta \frac{d\theta}{dt} = \theta_0 - \theta + \sigma_\theta \sqrt{2\tau_\theta} \xi(t)$$

where  $\theta_0$  is the mean voltage threshold,  $\sigma_\theta$  is the standard deviation of the threshold distribution,  $\xi(t)$  is a gaussian white noise and  $\tau_\theta$  is



**Figure 11. Effect of distal spike initiation and channel noise on the slope-threshold relationship.** A, Illustration of the effect of depolarization slope  $s$  on somatic spike onset. In cortical neurons, spikes are initiated in the axon initial segment (AIS, black), then backpropagated to the soma (blue). Somatic depolarization is propagated forward to the spike initiation site in the axon with delay  $\tau_f$ . A spike is initiated in the axon when the threshold  $V_T$  is reached (dashed red line). The spike is backpropagated to the soma with delay  $\tau_b$ . During time  $\tau_f + \tau_b$ , the somatic voltage has increased by  $s(\tau_f + \tau_b)$  and the spike onset is seen higher (red dot). B, Slope-threshold relationship in the multicompartmental model of Yu et al. (2008) [7] with fluctuating inputs (mean 0.7 nA, standard deviation 0.2 nA, time constant 10 ms), measured at the AIS (top) and at the soma (bottom). As expected, the slope-threshold relationship is less pronounced at the soma than at the AIS. C, The effect of channel noise is modeled by a stochastic threshold (red;  $\theta_0 = -50$  mV,  $\sigma_\theta = 2$  mV, and  $\tau_\theta = 1$  ms) and the neuron is linearly depolarized. With slow depolarization (left), the threshold (at spike time) is lower than the average instantaneous threshold. With fast depolarization (right), the threshold distribution (at spike time) follows the distribution of  $\theta$ . D, As a result, the threshold is positively correlated with the depolarization slope (blue dots: threshold vs. slope for all spikes in the simulations; black dots: average threshold for each slope). doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.g011

the time constant of fluctuations (related to the time constant of Na activation).

When depolarization is very slow, spikes will be initiated lower than  $\theta_0$  on average, because the stochastic threshold has time for many excursions below its mean, i.e., the threshold reaches the membrane potential rather than the converse (Figure 11C, left). In fact if the membrane is not depolarized (zero slope), a spike will be initiated at resting potential (although after a potentially very long time) because there is a positive probability that  $\theta$  reaches that potential. On the contrary, if depolarization is very fast, spike initiation occurs at  $\theta(t)$ , where  $t$  is near the time of depolarization, and therefore the distribution of the threshold at spike times is the same as the distribution of  $\theta(t)$  (at all times), with mean  $\theta_0$  (Figure 11C, right). Therefore, the threshold is positively correlated with the slope of depolarization. We confirmed this reasoning with a numerical simulation of the model for different depolarization slopes (Figure 11D). Thus, as for distal spike initiation, channel noise produces threshold variability but induces a (weak) positive slope-threshold relationship, which is contrary to experimental findings.

### Synaptic conductances

The spike threshold increases with the total non-sodium conductance, because spike initiation requires more Na channels to be open in order to counteract a larger total conductance. Thus, fluctuating synaptic conductances could be a source of threshold variability. We previously estimated the effect of total conductance on spike threshold through the following formula [23]:

$$\theta = V_T + k_a \log\left(\frac{g_{tot}}{g_L}\right)$$

where  $g_{tot} = g_e + g_i + g_L$  is the total conductance, including excitatory ( $g_e$ ) and inhibitory ( $g_i$ ) conductances, and we ignored the effects of Na inactivation. Threshold variability is determined by the variability of total conductance at spike time. In low-conductance states (*in vitro* or down states *in vivo*), spikes are preferentially triggered by increases in excitatory conductance  $g_e$  [49]. In this case, the depolarization rate is positively correlated with  $g_e$ , and therefore with the threshold. Besides threshold variability can only be mild because the total conductance is low (relative to the leak conductance). In high-conductance states (up states *in vivo*), spikes are preferentially triggered by decreases in inhibitory conductance  $g_i$  [49]. In this case, the depolarization rate is negatively correlated with  $g_i$ , and therefore with the threshold. Therefore, in high-conductance states but not in low-conductance states, the slope-threshold relationship induced by synaptic conductances is qualitatively consistent with experimental observations *in vivo*. However, with the same reasoning, the membrane potential increases when inhibition decreases and therefore, if inhibition is the main source of variability, the threshold should be negatively correlated with the preceding membrane potential, which contradicts experimental observations *in vivo*. Therefore, synaptic conductances cannot simultaneously account for the slope-threshold relationship and for the dependence on membrane potential observed *in vivo*.

### Sodium channel activation

In our analysis, we assumed that Na activation is instantaneous. Voltage clamp measurements indeed show that its time constant is only a fraction of millisecond [50,29,51,52]. However, with this approximation, we might have neglected a source of threshold variability. As previously, let us examine the potential contribution

of this cause of threshold variability to the slope-threshold relationship. If depolarization is slow (compared to the activation time constant), then the proportion of open channels is given by the steady-state activation curve and our analysis applies. If depolarization is very fast, fewer channels are opened than at steady state and therefore the threshold is higher. Thus, non-instantaneous activation of Na channels contributes a positive correlation between depolarization rate and threshold, contrary to experimental findings.

### Other voltage-gated channels

In the same way as synaptic conductances, voltage-gated channels may also modulate the spike threshold [23]. In particular, the delayed-rectifier potassium channel (e.g. Kv1) has been previously proposed by several authors as the source of threshold variability [2,10,11,14–16,21]. Indeed, a similar model to our iLIF model was previously introduced in the context of threshold accommodation by potassium channels [36]. To account for the positive correlation between membrane potential and threshold, the conductance must increase with depolarization, i.e., the activation curve must be an increasing function of the voltage. We only consider this case in this discussion. The threshold depends on the voltage-gated conductance  $g_K$  through the following formula:

$$\theta = V_T + k_a \log \frac{g_L + g_K}{g_L}$$

where we ignored the effect of Na inactivation. To account for significant threshold variability, two conditions must be met: 1) the maximal conductance must be large (compared to the leak) and 2) the half-activation voltage must be low enough. In this case, the spike threshold adapts to the membrane potential, which implies a positive correlation between membrane potential and threshold and a negative correlation between depolarization rate and threshold, as experimentally observed. It is also possible to differentiate the threshold equation and obtain a differential equation that describes the threshold dynamics as for Na inactivation, although it takes a different form [23]. However, there are several differences with threshold modulation induced by Na inactivation. Firstly, the threshold is always bounded by the value obtained with the maximal conductance. Secondly, the relationship between membrane potential and threshold is in general sigmoidal and can only be linear in a limited range, where the voltage is below half-activation but the conductance is still very large (the slope of this relationship is then  $k_a^{Na}/k_a^K$ ). The impact on synaptic integration is also different, because the conductance impacts not only the threshold but also the PSPs and effective membrane time constant.

Finally, we discuss below the possible interactions of several Na channel subtypes and of slow and fast Na inactivation.

### Inactivation with several sodium channel subtypes

We assumed that a single Na channel type (e.g. Nav1.6) was present. It is possible to extend our analysis to the case of multiple subtypes. Suppose the Na current is made of two components corresponding to two channel types:

$$I_{Na} = g_L h_1 k_a e^{(V-V_{T1})/k_a} + g_L h_2 k_a e^{(V-V_{T2})/k_a}$$

To simplify, we assumed that the two channels have the same activation Boltzmann factor  $k_a$ , which is not unreasonable. Then the Na current can be equivalently expressed as:

$$I_{Na} = g_L k_a e^{(V-\theta)/k_a}$$

where:

$$\begin{aligned} \theta &= -k_a \log \left( h_1 e^{-\frac{V_{T1}}{k_a}} + h_2 e^{-\frac{V_{T2}}{k_a}} \right) \\ &= V_{T1} - k_a \log(h_1 + h_2 e^{\frac{V_{T1}-V_{T2}}{k_a}}) \end{aligned}$$

In other words, when several subtypes are present, inactivation in the threshold equation is replaced by a linear combination of inactivation variables of all subtypes. For example, Nav1.2 and Nav1.6 are both found in the axon initial segment [8], and Nav1.2 channels activate and inactivate at more depolarized potentials than Nav1.6 [53]. According to the threshold equation above, at hyperpolarized voltages, threshold modulation should be mainly determined by Nav1.6 (the inactivation variable  $h_2$  for Nav1.2 is less voltage-dependent and its threshold is higher); at more depolarized voltages (assuming the threshold has not been reached), Nav1.6 channels inactivate ( $h_1 \approx 0$ ) and threshold modulation is then determined by Nav1.2 channels. Note however that with several channel subtypes, it is not possible to express threshold dynamics as a single kinetic equation for  $\theta$  anymore (without the use of the hidden variables  $h_1$  and  $h_2$ ).

### Slow sodium channel inactivation

In the present study, we focused on fast Na inactivation. We have briefly mentioned that the threshold equation applies when Na inactivation is slow, and implies that the threshold increases after each spike, which induces a negative correlation between threshold and preceding inter-spike interval. This effect is expected, but it gets more interesting when the interaction between slow and fast components is considered. One way to model this interaction is to consider two Na currents, as in the previous section. But since inactivation in the same channel can show slow and fast components, it might be more relevant to include this interaction in the gating variables. The simplest way is to consider these components as independent gating processes, that is:

$$I_{Na} = g_L h_{slow} h_{fast} k_a e^{(V-V_T)/k_a}$$

where the gating variables  $h_{slow}$  and  $h_{fast}$  have slow and fast dynamics, respectively [54,55]. Since the interaction is multiplicative for the Na current, it is additive for the threshold:

$$\theta = \theta_{slow} + \theta_{fast} = V_T - k_a \log h_{slow} - k_a \log h_{fast}$$

In this case, it is possible to write a kinetic equation for each component of the threshold ( $\theta_{fast}$  and  $\theta_{slow}$ ), in the same way as before (note that  $\theta_{slow}$  increases after each spike, whereas this effect can be neglected for  $\theta_{fast}$  since its impact on subsequent spikes is negligible). Here, the effect of slow inactivation can be thought of as a slow change of an effective minimal threshold  $V_T^* = V_T - k_a \log h_{slow}$  with firing activity. Interesting interactions appear because, as we have seen, threshold variability depends on the value of that minimal threshold (relative to  $V_i$ ). Suppose for example that  $V_T < V_i$ . At low firing rates (when interspike intervals are larger than the slow inactivation time constant),  $V_T^* \approx V_T$  and the threshold is not variable. If the firing rate is high enough, then

$V_T^* > V_i$  and the threshold becomes variable with fast inactivation. In the same way, the time constant of synaptic integration should be larger at low rates than at high rates. Thus, slow inactivation controls threshold modulation by fast inactivation.

In summary, many mechanisms may contribute to the variability of the spike threshold, but only two can account for its observed adaptive properties: Na inactivation and adaptive conductances (most likely K channels). Although threshold dynamics is qualitatively similar for both mechanisms, they can be distinguished by the fact that Na inactivation has no subthreshold effect on the membrane potential. Specifically, if the threshold is mainly modulated by adaptive conductances, then we can make two predictions:

- 1) The relationship between membrane potential and threshold should be determined by the I-V curve in the region where Na channels are closed:  $\theta = \alpha + k_a \log \left| \frac{dI}{dV}(V) \right|$ , where  $\alpha$  is a constant, and the I-V curve should be highly nonlinear (this derives from the threshold equation above and the fact the total conductance is  $dI/dV$ ).
- 2) The effective membrane time constant  $\tau_{eff}$  (as measured e.g. by the response to current pulses) should be inversely correlated with the threshold, through a similar formula:  $\theta = \beta - k_a \log \tau_{eff}$ , because  $\tau_{eff}$  is inversely proportional to the total conductance.

In a few experimental studies, the application of  $\alpha$ -dendrotoxin, a pharmacological blocker of low-voltage-activated potassium channels, greatly reduces threshold variability [16], which suggests a strong role for these channels in threshold adaptation. Our results suggest an alternative interpretation of these observations. The application of a blocker reduces the total conductance, which also reduces the minimum threshold  $V_T$  (see the threshold equation with voltage-gated channels), possibly below half-inactivation voltage  $V_i$ , where there is no threshold adaptation due to Na inactivation. Thus, it could be that threshold adaptation was due to Na inactivation, but that suppressing K conductances shifted the minimum threshold out of the operating range of this mechanism. This hypothesis could be tested by simultaneously injecting a fixed conductance in dynamic clamp, to compensate for the reduction in total conductance of the cell.

Although we cannot draw a universal conclusion at this point, and while it is possible that either or both mechanisms are present in different cells, we observe that Na inactivation is a metabolically efficient way for neurons to shorten and regulate the time constant of synaptic integration. Indeed, Na inactivation implies no charge movement across the membrane while K<sup>+</sup> conductances modulate the threshold by counteracting the Na current, which implies a large transfer of charges across the membrane (Na<sup>+</sup> inward and K<sup>+</sup> outward) in the entire region where the threshold is variable. Recently, it was found in hippocampal mossy fibers that K<sup>+</sup> channels open only after spike initiation, in a way that minimizes charge movements [56]. Since energy consumption in the brain is a strong evolutionary pressure [57–59], we suggest that Na inactivation may be the main source of threshold variability when this variability has functional benefits.

## Methods

All numerical simulations were implemented with the Brian simulator [60] on a standard PC.

### Inactivating exponential model (iEIF)

Near spike initiation, the Na current can be approximated by an exponential function of the voltage [18,24]. If the inactivation variable  $h$  is not discarded (see Text S1 A), we obtain the following model (membrane equation and inactivation dynamics):

$$C \frac{dV}{dt} = g_L h \exp\left(\frac{V - V_T}{k_a}\right) + g_L(E_L - V) + I \quad (1)$$

$$\frac{dh}{dt} = \frac{h_\infty(V) - h}{\tau_h} \quad (2)$$

where  $V$  is the membrane potential,  $h$  is the Na inactivation variable,  $I$  is the input current,  $C$  is the membrane capacitance,  $g_L$  (resp.  $E_L$ ) is the leak conductance (resp. the reversal potential),  $k_a$  is the Na activation slope factor,  $V_T$  is the threshold when Na channels are not inactivated,  $h_\infty$  is the Na steady-state inactivation function, and  $\tau_h$  is the Na inactivation time constant, which we consider constant for simplification (except in Figure 10D). Since the model does not include K<sup>+</sup> channels and the exponential approximation is not valid beyond spike initiation, action potentials are not realistically reproduced, but we only focus on spike initiation. We call this model iEIF (inactivating exponential integrate-and-fire model, equations (1–2)). The membrane potential is reset to  $E_L$  when it crosses 0 mV ( $h$  is unchanged). In

Figure 2, we used  $E_L = -70$  mV,  $\tau = \frac{C}{g_L} = 5$  ms (typical membrane time constant in vivo [34]),  $V_T = -58$  mV,  $k_a = 5$  mV,  $\tau_h = 5$  ms, and the inactivation function was a Boltzmann function with parameters  $V_i = -63$  mV and  $k_i = 6$  mV.

### Adaptive threshold model and iLIF model

A very good approximation of the Na current is an exponential function of  $V$  [18,24,61]. The spike threshold can then be expressed with the threshold equation [23]:

$$\theta = V_T - k_a \log h \quad (3)$$

where

$$V_T = V_a - k_a \log \left( \frac{g_{Na} E_{Na} - V_a}{g_L k_a} \right) \quad (4)$$

is the minimum threshold, i.e., when Na channels are not inactivated ( $h = 1$ ). By differentiating the threshold equation and substituting the differential equation for  $h$ , we obtain a differential equation for  $\theta$  as function of the membrane potential (see Text S1), which can be approximated by:

$$\tau_\theta \frac{d\theta}{dt} = \theta_\infty(V) - \theta \quad (5)$$

with  $\tau_\theta = \tau_h$ , where  $\theta_\infty(V) = V_T - k_a \log h_\infty(V)$  is the steady-state threshold, which can be approximated by a piecewise linear function (see Text S1):

$$\theta_\infty(V) = V_T, \text{ if } V < V_i \quad (6)$$

$$\theta_\infty(V) = \frac{k_a}{k_i}(V - V_i) + V_T, \text{ if } V > V_i \quad (7)$$

We refer to the differential equation of  $\theta$  together with the expression of  $\theta_\infty(V)$  above as the *adaptive threshold model*. In simulations, we used this model with a passive membrane equation:

$$\tau_m \frac{dV}{dt} = E_L - V + RI \quad (8)$$

where  $R$  is the membrane resistance and  $I$  is the input current, and a spike is produced when  $V > \theta$ . The membrane potential is then reset to  $E_L$ . Refractoriness is implemented either by maintaining  $V$  at resting potential for 5 ms (Figure 10) or by increasing the threshold  $\theta$  by 3.6 mV (Figures 4, 6–8), corresponding to a spike duration of 3 ms and  $k_a = 6$  mV (see Text S1 A, effect of output spikes on threshold). We call this model iLIF (inactivating leaky integrate-and-fire model, equations (5–8)). In Figure 10 we used  $\tau_m = 20$  ms and Na parameters from a recent study of the role of Na inactivation in the temporal precision of auditory neurons [17]:  $V_a = -38.6$  mV;  $k_a = 4.1$  mV;  $V_i = -57.9$  mV;  $k_i = 4.6$  mV. For Figures 4–8, we used  $V_T = -55$  mV,  $V_i = -63$  mV (average value in the *in situ* dataset),  $\tau_m = \tau_\theta = 5$  ms. Unless otherwise specified, we chose  $k_a/k_i = 1$  (average in the dataset: 1.05).

In Figure 10D, the time constant of Na inactivation is voltage-dependent, as in [17]:

$$\tau_h(V) = \frac{1}{\phi} \left[ 100 \left( 7e^{\frac{V+60}{11}} + 10e^{-\frac{V+60}{25}} \right)^{-1} + 0.6 \right],$$

where  $\phi = 3^{\frac{40-23}{10}} = 3$ .

### Fluctuating inputs

Fluctuating inputs (Figures 2C–E, 6–10) were generated according to Ornstein-Uhlenbeck processes:

$$\frac{dI}{dt} = \frac{\mu_I - I}{\tau_I} + \sigma_I \sqrt{\frac{2}{\tau_I}} \xi(t)$$

where  $\mu_I$  is the mean,  $\sigma_I$  is the standard deviation,  $\tau_I$  is the autocorrelation time constant, and  $\xi(t)$  is a gaussian white noise of zero mean and unitary variance. We chose  $\tau_I = 10$  ms in Figure 2 and  $\tau_I = 2$  ms in other figures.

### Empirical threshold measurement

To measure spike onset in models with no explicit threshold (Figures 2, 10, 11), we used the first derivative method [62], which consists in measuring the membrane potential  $V$  when its derivative  $dV/dt$  crosses an empirical criterion  $k_{th}$ . Since the input is not controlled, it measures spike onset and is an overestimate of the spike threshold. These two quantities can be related in simple models [23].

### Slope-threshold relationship

To calculate the relationship between the slope of depolarization and the threshold, we consider a linear depolarization with

slope  $s$ :  $V(t) = st$ , and we calculate the intersection with the threshold  $\theta(t)$  (Figure 5A), described by the adaptive threshold model. By integrating the dynamic threshold equation, we find that when  $V = \theta$  ( $t = \theta/s$ ), the threshold is implicitly determined by the following equation:

$$\theta = \frac{1}{\tau_\theta} \int_{-\infty}^{\theta/s} e^{\frac{u-\theta/s}{\tau_\theta}} \theta_\infty(su) du$$

For low values of  $s$ , this equation may have no solution (i.e., the neuron does not spike). Using the piecewise linear approximation of the steady-state threshold, we obtain:

$$\theta = \frac{1}{\tau_\theta} \left[ \int_{-\infty}^{V_i/s} e^{\frac{u-\theta/s}{\tau_\theta}} V_T du + \int_{V_i/s}^{\theta/s} e^{\frac{u-\theta/s}{\tau_\theta}} \left( \frac{k_a}{k_i} (su - V_i) + V_T \right) du \right]$$

which simplifies to:

$$\theta = V_i - s\tau_\theta \log \frac{(1 - k_a/k_i)\theta + k_a/k_i(s\tau_\theta + V_i) - V_T}{k_a/k_i s\tau_\theta}$$

This is also an implicit equation for  $\theta$ , but it can be easily (numerically) calculated with a nonlinear solver. A closed formula can be obtained in the case when  $k_a = k_i$ :

$$\theta = V_i - s\tau_\theta \log \left( 1 + \frac{V_i - V_T}{s\tau_\theta} \right)$$

## Supporting Information

**Figure S1** Slope-threshold relationship in the multicompartmental model of Hu et al. (2009), measured with linear regression over 5 ms (black dots), superimposed on the calculated relationship (red dashed line), using the Na channel properties of the model (as in Platkiewicz and Brette, 2010, Fig. 8H).

Found at: doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.s001 (0.17 MB PDF)

**Table S1** Properties of Na channels of central neurons *in situ*.

Found at: doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.s002 (0.16 MB PDF)

**Text S1** Impact of sodium channel inactivation on spike threshold dynamics and synaptic integration.

Found at: doi:10.1371/journal.pcbi.1001129.s003 (0.53 MB PDF)

## Author Contributions

Conceived and designed the experiments: JP RB. Performed the experiments: JP RB. Analyzed the data: JP RB. Wrote the paper: JP RB.

## References

- Azouz R, Gray CM (2000) Dynamic spike threshold reveals a mechanism for synaptic coincidence detection in cortical neurons *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 8110–8115.
- Azouz R, Gray CM (2003) Adaptive coincidence detection and dynamic gain control in visual cortical neurons *in vivo*. *Neuron* 37: 513–523.
- Polavieja GGD, Harsch A, Kleppe I, Robinson HPC, Juusola M (2005) Stimulus history reliably shapes action potential waveforms of cortical neurons. *J Neurosci* 25: 5657–5665.
- Wilent WB, Contreras D (2005) Stimulus-dependent changes in spike threshold enhance feature selectivity in rat barrel cortex neurons. *J Neurosci* 25: 2983–2991.
- Naundorf B, Wolf F, Volgushev M (2006) Unique features of action potential initiation in cortical neurons. *Nature* 440: 1060–1063.
- McCormick DA, Shu Y, Yu Y (2007) Neurophysiology: Hodgkin and Huxley model—still standing? *Nature* 445: E1–2; discussion E2–3.
- Yu Y, Shu Y, McCormick DA (2008) Cortical action potential backpropagation explains spike threshold variability and rapid-onset kinetics. *J Neurosci* 28: 7260–7272.
- Hu W, Tian C, Li T, Yang M, Hou H, et al. (2009) Distinct contributions of Na(v)1.6 and Na(v)1.2 in action potential initiation and backpropagation. *Nature Neurosci* 12: 996–1002.

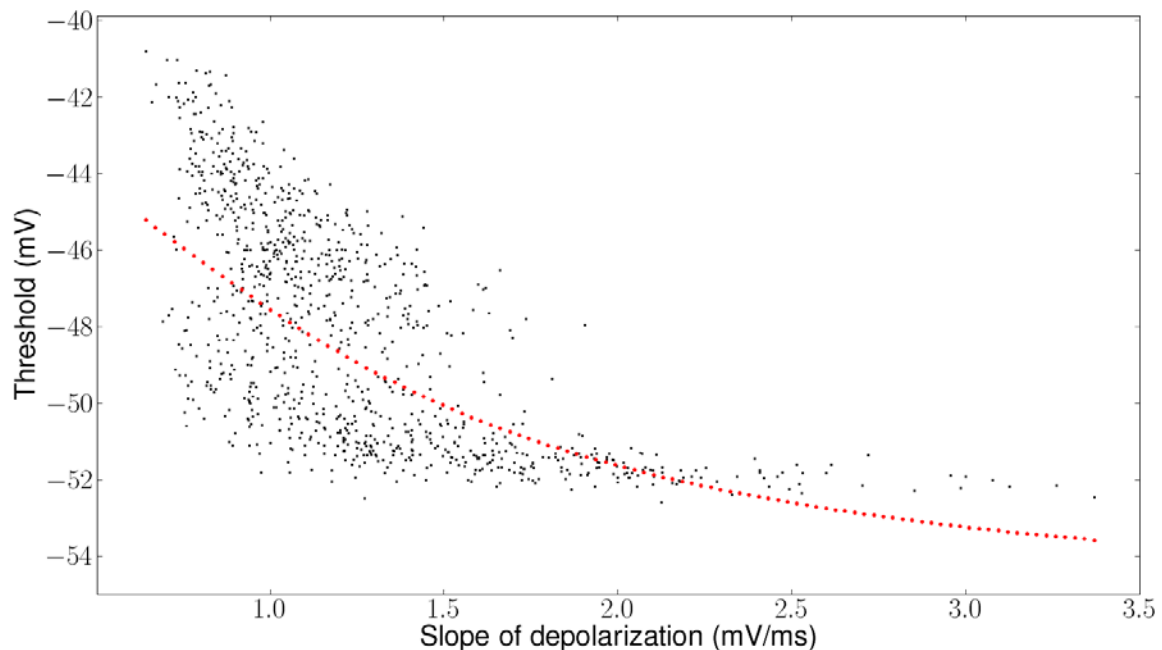
9. Wickens JR, Wilson CJ (1998) Regulation of action-potential firing in spiny neurons of the rat neostriatum in vivo. *J Neurophysiol* 79: 2358–2364.
10. Guan D, Lee JCF, Higgs MH, Spain WJ, Fochring RC (2007) Functional roles of Kv1 channels in neocortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 97: 1931–1940.
11. Goldberg EM, Clark BD, Zagha E, Nahmani M, Erisir A, et al. (2008) K<sup>+</sup> channels at the axon initial segment dampen near-threshold excitability of neocortical fast-spiking GABAergic interneurons. *Neuron* 58: 387–400.
12. Fricker D, Verheugen JA, Miles R (1999) Cell-attached measurements of the firing threshold of rat hippocampal neurones. *J Physiol* 517.3: 791–804.
13. Henze DA, Buzsáki G (2001) Action potential threshold of hippocampal pyramidal cells in vivo is increased by recent spiking activity. *Neuroscience* 105: 121–130.
14. Ferragamo MJ, Oertel D (2002) Octopus cells of the mammalian ventral cochlear nucleus sense the rate of depolarization. *J Neurophysiol* 87: 2262–2270.
15. Gittelman JX, Tempel BL (2006) Kv1.1-containing channels are critical for temporal precision during spike initiation. *J Neurophysiol* 96: 1203–1214.
16. McGinley MJ, Oertel D (2006) Rate thresholds determine the precision of temporal integration in principal cells of the ventral cochlear nucleus. *Hear Res* 216–217: 52–63.
17. Kuba H, Ohmori H (2009) Roles of axonal sodium channels in precise auditory time coding at nucleus magnocellularis of the chick. *J Physiol* 587: 87–100.
18. Badel L, Lefort S, Brette R, Petersen CCH, Gerstner W, et al. (2008) Dynamic I-V curves are reliable predictors of naturalistic pyramidal-neuron voltage traces. *J Neurophysiol* 99: 656–666.
19. Priebe NJ, Ferster D (2008) Inhibition, spike threshold, and stimulus selectivity in primary visual cortex. *Neuron* 57: 482–497.
20. Cardin JA, Palmer LA, Contreras D (2008) Cellular mechanisms underlying stimulus-dependent gain modulation in primary visual cortex neurons in vivo. *Neuron* 59: 150–160.
21. Carr CE, Iyer S, Soares D, Kalluri S, Simon JZ (2005) Are neurons adapted for specific computations? Examples from temporal coding in the auditory system. In: van Hemmen JL, Sejnowski TJ, eds. *23 problems in systems neuroscience*. New York: Oxford University Press.
22. Kuba H, Ishii TM, Ohmori H (2006) Axonal site of spike initiation enhances auditory coincidence detection. *Nature* 444: 1069–1072.
23. Platkievicz J, Brette R (2010) A threshold equation for action potential initiation. *PLoS Comput Biol* 6: e1000850. doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.
24. Fourcaud-Trocmé N, Hansel D, Vreeswijk CV, Brunel N (2003) How spike generation mechanisms determine the neuronal response to fluctuating inputs. *J Neurosci* 23: 11628–11640.
25. Angelino E, Brenner MP (2007) Excitability constraints on voltage-gated sodium channels. *PLoS Comput Biol* 3: 1751–1760.
26. Cole KS, Guttman R, Bezanilla F (1970) Nerve membrane excitation without threshold. *Proc Natl Acad Sci U S A* 65: 884–891.
27. Catterall WA, Goldin AL, Waxman SG (2005) International Union of Pharmacology. XLVII. Nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated sodium channels. *Pharmacol Rev* 57: 397–409.
28. Borg-Graham LJ (1999) Interpretations of data and mechanisms for hippocampal pyramidal cell models. In: Jones EG, Ulinski PS, eds. *Cerebral cortex: Models of cortical circuits*. New York: Plenum Press. pp 19–138.
29. Mercer JN, Chan CS, Tkatch T, Held J, Surmeier DJ (2007) Nav1.6 sodium channels are critical to pacemaking and fast spiking in globus pallidus neurons. *J Neurosci* 27: 13552–13566.
30. Royeck M, Horstmann M, Remy S, Reitze M, Yaari Y, et al. (2008) Role of axonal Nav1.6 sodium channels in action potential initiation of CA1 pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 100: 2361–2380.
31. Jercog PE, Svirkis G, Kotak VC, Sanes DH, Rinzel J (2010) Asymmetric Excitatory Synaptic Dynamics Underlie Interaural Time Difference Processing in the Auditory System. *PLoS Biol* 8: e1000406. doi:10.1371/journal.pbio.1000406.
32. Destexhe A, Rudolph M, Fellous JM, Sejnowski TJ (2001) Fluctuating synaptic conductances recreate in vivo-like activity in neocortical neurons. *Neuroscience* 107: 13–24.
33. Destexhe A, Rudolph M, Paré D (2003) The high-conductance state of neocortical neurons in vivo. *Nature Rev Neurosci* 4: 739–751.
34. Paré D, Shink E, Gaudreau H, Destexhe A, Lang EJ (1998) Impact of spontaneous synaptic activity on the resting properties of cat neocortical pyramidal neurons in vivo. *J Neurophysiol* 79: 1450.
35. Leger J, Stern EA, Aertsen A, Heck D (2005) Synaptic Integration in Rat Frontal Cortex Shaped by Network Activity. *J Neurophysiol* 93: 281–293.
36. Dodla R, Svirkis G, Rinzel J (2006) Well-Timed, Brief Inhibition Can Promote Spiking: Postinhibitory Facilitation. *J Neurophysiol* 95: 2664–2677.
37. Izhikevich EM (2006) *Dynamical Systems in Neuroscience: The Geometry of Excitability and Bursting*. Cambridge, MA: MIT Press.
38. Arsiero M, Luscher H, Lundstrom BN, Giugliano M (2007) The Impact of Input Fluctuations on the Frequency-Current Relationships of Layer 5 Pyramidal Neurons in the Rat Medial Prefrontal Cortex. *J Neurosci* 27: 3274–3284.
39. Ringach DL, Malone BJ (2007) The Operating Point of the Cortex: Neurons as Large Deviation Detectors. *J Neurosci* 27: 7673–7683.
40. Mathews PJ, Jercog PE, Rinzel J, Scott LL, Golding NL (2010) Control of submillisecond synaptic timing in binaural coincidence detectors by Kv1 channels. *Nature Neurosci* 13: 601–609.
41. Remme MWH, Rinzel J (2010) Role of active dendritic conductances in subthreshold input integration. *J Comput Neurosci*, E-pub ahead of print. doi: 10.1007/s10827-010-0295-7.
42. Palmer LM, Stuart GJ (2006) Site of action potential initiation in layer 5 pyramidal neurons. *J Neurosci* 26: 1854–1863.
43. White JA, Rubinstein JT, Kay AR (2000) Channel noise in neurons. *Trends Neurosci* 23: 131–137.
44. Hille B (2001) *Ion channels of excitable membranes*. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
45. Lecar H, Nossal R (1971) Theory of threshold fluctuations in nerves. II. Analysis of various sources of membrane noise. *Biophys J* 11: 1068–1084.
46. Lecar H, Nossal R (1971) Theory of threshold fluctuations in nerves. I. Relationships between electrical noise and fluctuations in axon firing. *Biophys J* 11: 1048–1067.
47. Sigworth FJ (1980) The variance of sodium current fluctuations at the node of Ranvier. *J Physiol* 307: 97–129.
48. Rubinstein J (1995) Threshold fluctuations in an N sodium channel model of the node of Ranvier. *Biophys J* 68: 779–785.
49. Pivkowska Z, Pospischil M, Brette R, Sliwa J, Rudolph-Lilith M, et al. (2008) Characterizing synaptic conductance fluctuations in cortical neurons and their influence on spike generation. *J Neurosci Methods* 169: 302–322.
50. Baranauskas G, Martina M (2006) Sodium currents activate without a Hodgkin-and-Huxley-type delay in central mammalian neurons. *J Neurosci* 26: 671–684.
51. Martina M, Jonas P (1997) Functional differences in Na<sup>+</sup> channel gating between fast-spiking interneurons and principal neurones of rat hippocampus. *J Physiol* 505: 593–603.
52. Huguenard JR, Hamill OP, Prince DA (1988) Developmental changes in Na<sup>+</sup> conductances in rat neocortical neurons: appearance of a slowly inactivating component. *J Neurophysiol* 59: 778–795.
53. Rush AM, Dib-Hajj SD, Waxman SG (2005) Electrophysiological properties of two axonal sodium channels, Nav1.2 and Nav1.6, expressed in mouse spinal sensory neurones. *J Physiol* 564: 803–815.
54. Kim KJ, Rieke F (2003) Slow Na<sup>+</sup> inactivation and variance adaptation in salamander retinal ganglion cells. *J Neurosci* 23: 1506–1516.
55. Fleidervish IA, Friedman A, Gutnick MJ (1996) Slow inactivation of Na<sup>+</sup> current and slow cumulative spike adaptation in mouse and guinea-pig neocortical neurones in slices. *J Physiol (Lond)* 493.1: 83–97.
56. Alle H, Roth A, Geiger JRP (2009) Energy-Efficient Action Potentials in Hippocampal Mossy Fibers. *Science* 325: 1405–1408.
57. Attwell D, Laughlin SB (2001) An Energy Budget for Signaling in the Grey Matter of the Brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 21: 1133–1145.
58. Lennie P (2003) The Cost of Cortical Computation. *Curr Biology* 13: 493–497.
59. Niven JE, Laughlin SB (2008) Energy limitation as a selective pressure on the evolution of sensory systems. *J Exp Biol* 211: 1792–1804.
60. Goodman D, Brette R (2008) Brian: a simulator for spiking neural networks in python. *Front Neuroinformatics* 2: 5.
61. Brette R, Gerstner W (2005) Adaptive exponential integrate-and-fire model as an effective description of neuronal activity. *J Neurophysiol* 94: 3637–3642.
62. Azouz R, Gray CM (1999) Cellular mechanisms contributing to response variability of cortical neurons in vivo. *J Neurosci* 19: 2209–2223.
63. Destexhe A, Paré D (1999) Impact of Network Activity on the Integrative Properties of Neocortical Pyramidal Neurons In Vivo. *J Neurophysiol* 81: 1531–1547.

## Impact of sodium channel inactivation on spike threshold dynamics and synaptic integration

Jonathan Platkiewicz<sup>1,2</sup> and Romain Brette<sup>1,2</sup> (romain.brette@ens.fr)

<sup>1</sup>Laboratoire Psychologie de la Perception, CNRS and Université Paris Descartes, Paris, France, and

<sup>2</sup>Département d'Etudes Cognitives, Ecole Normale Supérieure, Paris, France



**Figure S1.** Slope-threshold relationship in the multicompartmental model of Hu et al. (2009), measured with linear regression over 5 ms (black dots), superimposed on the calculated relationship (red dashed line), using the Na channel properties of the model (as in Platkiewicz and Brette, 2010, Fig. 8H).

### References

Platkiewicz J, Brette R (2010) A threshold equation for action potential initiation. *PLoS Comput Biol* 6(7): e1000850. doi:10.1371/journal.pcbi.1000850.

Hu W, Tian C, Li T, Yang M, Hou H, et al. (2009) Distinct contributions of Na(v)1.6 and Na(v)1.2 in action potential initiation and backpropagation. *Nat Neurosci* 12: 996–1002



Impact of sodium channel inactivation on spike threshold dynamics and synaptic integration

Jonathan Platkiewicz<sup>1,2</sup> and Romain Brette<sup>1,2</sup> (romain.brette@ens.fr)

<sup>1</sup>Laboratoire Psychologie de la Perception, CNRS and Université Paris Descartes, Paris, France, and <sup>2</sup>Département d'Etudes Cognitives, Ecole Normale Supérieure, Paris, France

Table S1 - Properties of Na channels of central neurons *in situ*.

Reference	Va (mV)	ka (mV)	Vi (mV)	ki (mV)	ka/ki	Area	Cellular type	Developmental stage	Recording site	Animal
Huguenard et al. (1988) <sup>1</sup>	-30,6	5,1	-65	6,2	0,82	neocortex	pyramidal	mature	soma	rat
	-39,4	5,4	-62,6	5,9	0,92			young		
	-30,4	5,6	-68,4	5,7	0,98			immature		
	-34,1	5,4	-62	5,9	0,92		putative interneuron	mature		
	-35,2	5,6	-66,4	5,6	1,00			young		
	-26	5,5	-64,4	5,5	1,00			immature		
Martina and Jonas (1997) <sup>2</sup>	-8,82	9	-58,3	6,7	1,34	hippocampus - CA1	basket	P9 - 16	soma	rat
	-7,2	9,3	-62,9	10,7	0,87		pyramidal			
Colbert and Pan (2002) <sup>3</sup>	-31,6	6,8	-66	5,3	1,28	neocortex - layer 5	pyramidal	P14 - 24	soma	rat
	-38,4	6	-69	5,3	1,13				soma	
	-30,1	8,1	-66	5,9	1,37				axon initial segment	
Baranauskas and Martina (2006) <sup>4</sup>	-33,8	6,4	-72	6,8	0,94	prefrontal cortex	pyramidal	4 - 7 weeks old	soma	rat
Mercer et al. (2007) <sup>5</sup>	-28,5	5,7	-53,7	5	1,14	basal ganglia - globus pallidus		P16 - 22		mice
Kole et al. (2008) <sup>6</sup>	-21,7	6,5	-54,5	8,9	0,73	somatosensory cortex	pyramidal	2 - 4 weeks	soma	rat
	-31,1	6,5	-60,8	6,9	0,94				axon initial segment	
	-29,2	6,1	-58,7	5,4	1,13				axon initial segment depolymerized	
Royeck et al. (2008) <sup>7</sup>	-29,8	5,9	-50	4	1,48	hippocampus - CA1	pyramidal	P17 - 21	soma	mice
	-25	5,4	-50	4	1,35					mutant mice (deficient for Nav1.6 subunits)
Hu et al. (2009) <sup>8</sup>	-29,7	5,8	-67	7,1	0,82	prefrontal cortex	pyramidal	P16 - 20	soma	rat
	-43,9	5,7	-80	5,4	1,06				axon initial segment	
Kuba and Ohmori (2009) <sup>9</sup>	-39,5	4,4	-57,5	4,8	0,92	nucleus magnocellularis	high/middle-frequency auditory relay	P3 - 8	soma	chick
	-38,6	4,1	-57,9	4,6	0,89		low-frequency auditory relay			
Scott et al. (2010) <sup>10</sup>	-30,9	7,5	-77,4	7,4	1,01	medial superior olive	principal	P16 - 19	soma	mongolian gerbil
Mean	-30,2	6,2	-63,1	6	1,05					



# Impact of sodium channel inactivation on spike threshold dynamics and synaptic integration

Jonathan Platkiewicz<sup>1,2</sup> and Romain Brette<sup>1,2</sup> (romain.brette@ens.fr)

<sup>1</sup>Laboratoire Psychologie de la Perception, CNRS and Université Paris Descartes, Paris, France, and

<sup>2</sup>Département d'Etudes Cognitives, Ecole Normale Supérieure, Paris, France

## Text S1

### A. Derivation of the adaptive threshold model.

We recapitulate results from our previous study<sup>1</sup> and complement it with a derivation of the approximation of the steady-state threshold function.

We consider a membrane with only leak and Na channels, and we assume that Na activation is instantaneous (activation time constant is typically a fraction of ms<sup>2</sup>). In the standard Hodgkin-Huxley formalism, the membrane equation is then:

$$C \frac{dV}{dt} = g_{Na} P_a^\infty(V) h (E_{Na} - V) + g_L (E_L - V) + I$$
$$\frac{dh}{dt} = \frac{h_\infty(V) - h}{\tau_h(V)}$$

where  $V$  is the membrane potential,  $h$  is the Na inactivation variable,  $I$  is the input current,  $C$  is the membrane capacitance,  $g_L$  (resp.  $E_L$ ) is the leak conductance (resp. the reversal potential),  $g_{Na}$  (resp.  $E_{Na}$ ) is the maximal conductance (resp. reversal potential) of sodium channels,  $P_a^\infty$  (resp.  $h_\infty$ ) is the Na steady-state activation (resp. inactivation) function, and  $\tau_h$  is the Na inactivation time constant.

The steady-state activation curve  $P_a^\infty(V)$  can be empirically described as a Boltzmann function:

$$P_a^\infty(V) = \frac{1}{1 + \exp\left(-\frac{V - V_a}{k_a}\right)}$$

where  $V_a$  is the half-activation voltage ( $P_a^\infty(V_a) = 1/2$ ) and  $k_a$  the activation slope factor ( $P_a^{\infty'}(V_a) = 1/(4k_a)$ ). Action potentials are initiated well below  $V_a$  (about -30 mV<sup>3</sup>), so that  $e^{-(V-V_a)/k_a} \gg 1$  except during the spike. Similarly,  $E_{Na}$  is very high (about 55 mV), so that  $E_{Na} - V$  is not very variable below threshold. We make the approximation  $E_{Na} - V \approx E_{Na} - V_a$  and we obtain the following expression for the Na current:

$$I_{Na} = g_{Na} h (E_{Na} - V_a) e^{(V-V_a)/k_a} = g_L h k_a e^{(V-V_T)/k_a}$$

where  $V_T = V_a - k_a \log \frac{g_{Na} E_{Na} - V_a}{g_L k_a}$ . This approximation is meaningful for spike initiation but not for spike shape. With a reset (ignoring inactivation and other ionic channels), we obtain the exponential integrate-and-fire model<sup>4</sup>, which predicts the response of cortical neurons to somatic injection with good accuracy, in terms of spike timings<sup>5-7</sup>. In this model,  $V_T$  is the voltage threshold for constant input currents  $I$  and  $k_a$  (originally denoted  $\Delta_T$ ) is the slope factor, which measures the sharpness of spikes: in the limit  $k_a \rightarrow 0$  mV, the model becomes a standard

integrate-and-fire model with threshold  $V_T$  (note that in a multicompartmental model, spike sharpness is no longer related to  $k_a$ ). The resulting approximated membrane equation is thus:

$$C \frac{dV}{dt} = g_L h k_a e^{(V-V_T)/k_a} + g_L (E_L - V) + I$$

Finally, the inactivation variable  $h$  can be inserted in the exponential function:

$$C \frac{dV}{dt} = g_L k_a e^{\frac{V-\theta}{k_a}} + g_L (E_L - V) + I$$

where

$$\theta = V_T - k_a \log h$$

is the spike threshold (voltage threshold if all other variables are constant, i.e., it is such that  $F'(\theta)=0$ , where  $F$  is the current-voltage function). We refer to this latter formula as the *threshold equation*. The steady-state value of the threshold is thus  $\theta_\infty(V) = V_T - k_a \log h_\infty(V)$ .

#### *Dynamic equation for the threshold*

We differentiate the threshold equation with respect to time:

$$\frac{d\theta}{dt} = -k_a \frac{1}{h} \frac{dh}{dt} = -k_a \frac{1}{h} \frac{h_\infty(V) - h}{\tau_h(V)}$$

We now express  $h$  as a function of  $\theta$  using the inverse relationships:  $h = e^{(\theta-V_T)/k_a}$  and  $h_\infty(V) = e^{(\theta_\infty-V_T)/k_a}$ :

$$\tau_h(V) \frac{d\theta}{dt} = k_a \left(1 - e^{\frac{\theta-\theta_\infty(V)}{k_a}}\right)$$

This differential equation is the most accurate version of the adaptive threshold model. If the threshold remains close to its steady-state value ( $|\theta - \theta_\infty(V)| \ll k_a$ ), we can approximate the equation by:

$$\tau_\theta(V) \frac{d\theta}{dt} = \theta_\infty(V) - \theta$$

with  $\tau_\theta = \tau_h$  and  $\theta_\infty(V) = V_T - k_a \log h_\infty(V)$ .

#### *Linearization of the steady-state threshold*

The inactivation function is a Boltzmann function with parameters  $V_i$  (half-inactivation voltage) and  $k_i$  (inactivation slope factor). For low voltages ( $V \rightarrow -\infty$ ),  $h_\infty(V)$  tends to 1 (channels are not inactivated), therefore  $\theta_\infty(V)$  tends to  $V_T$ . For high voltages,  $h_\infty(V) \sim e^{-\frac{V-V_i}{k_i}}$ , so that  $\theta_\infty(V) \approx \frac{k_a}{k_i} (V - V_i) + V_T$ . This defines two linear asymptotes of the graph of  $\theta_\infty$ , which intersect at  $(V_i, V_T)$ . Thus,  $\theta_\infty$  can be approximated by the following piecewise linear function:

$$\begin{aligned}\theta_{\infty}(V) &= V_T, \text{ if } V < V_i \\ \theta_{\infty}(V) &= \frac{k_a}{k_i}(V - V_i) + V_T, \text{ otherwise}\end{aligned}$$

Thus, neglecting the voltage-dependence of the inactivation time constant, we obtain the following adaptive threshold model:

$$\tau_{\theta} \frac{d\theta}{dt} = \begin{cases} V_T - V & \text{if } V < V_i \\ k_a/k_i(V - V_i) + V_T - V & \text{otherwise} \end{cases}$$

### *Effect of output spikes on threshold*

The effect of previous spikes on spike threshold, which is presumably due to slow Na inactivation<sup>8</sup>, can be understood by looking at how an action potential acts on the inactivation variable  $h$ . Typical equilibrium curves for Na inactivation  $h_{\infty}(V)$  are Boltzmann functions with half-activation values  $V_i \approx -60$  mV and Boltzmann coefficients  $k_i \approx 6$  mV<sup>3</sup>, so that  $h_{\infty}(V)$  is close to 0 after spike initiation. Thus during the action potential, the inactivation variable relaxes to 0 according to the following equation:

$$\tau_h(V) \frac{dh}{dt} = -h$$

If we note  $\tau_h^*$  the average value of the time constant  $\tau_h(V)$  during the action potential and  $\delta t$  the spike duration (typically, a few ms), then the effect of an action potential on  $h$  is a partial reset:  $h \rightarrow h e^{-\delta t / \tau_h^*}$ , which translates for the threshold into a shift:  $\theta \rightarrow \theta + (\delta t / \tau_h^*) k_a$ . This effect was recently demonstrated *in vitro*<sup>5</sup> and explains *in vivo* observations where the threshold was found to be inversely correlated with the previous interspike interval<sup>8</sup>.

### **B. Effective postsynaptic potentials (PSPs).**

We consider an exponentially decaying PSP with time constant  $\tau$ , modeling the effect of a fast excitatory synapse:  $PSP(t) = e^{-t/\tau}$  (the PSP is normalized;  $\tau$  corresponds to the membrane time constant). The threshold PSP is defined as the increase in threshold due to this PSP. With the adaptive threshold model and when  $V > V_i$ , the threshold is a low-pass filtered version of the membrane potential, i.e.,  $L * PSP(t) = a(e^{-t/\tau} - e^{-t/\tau_{\theta}})$ , where

$$a = \frac{\tau}{\tau - \tau_{\theta}} \frac{k_a}{k_i}$$

If the steady-state threshold  $\theta_{\infty}(V)$  is not approximated by a piecewise linear function, then (for small PSPs),  $k_a/k_i$  should be replaced by  $d\theta_{\infty}/dV$  (increase rate of the threshold with depolarization).

The effective PSP is then  $PSP(t) - L * PSP(t) = a e^{-t/\tau_{\theta}} + (1 - a) e^{-t/\tau}$ : it has the same maximum height as the PSP ( $PSP(0)=1$ ), but first decays with the faster time constant  $\tau_{\theta}$ , then with the slower time constant  $\tau$  (assuming  $\tau_{\theta} < \tau$ ). In some cases the effective PSP can change sign. The zero crossing time can be calculated by solving the equation  $a e^{-t/\tau_{\theta}} + (1 - a) e^{-t/\tau} = 0$ , which gives:

$$t^* = -\frac{\tau\tau_\theta}{\tau - \tau_\theta} \log \left( 1 - \frac{(\tau - \tau_\theta)k_i}{\tau k_a} \right)$$

This is defined when the following condition is met:

$$\tau_\theta > \tau \left( 1 - \left( \frac{k_i}{k_a} \right)^{-1} \right)$$

When this condition is not met, the effective PSP has constant sign (i.e. positive for an excitatory PSP, negative for an inhibitory PSP).

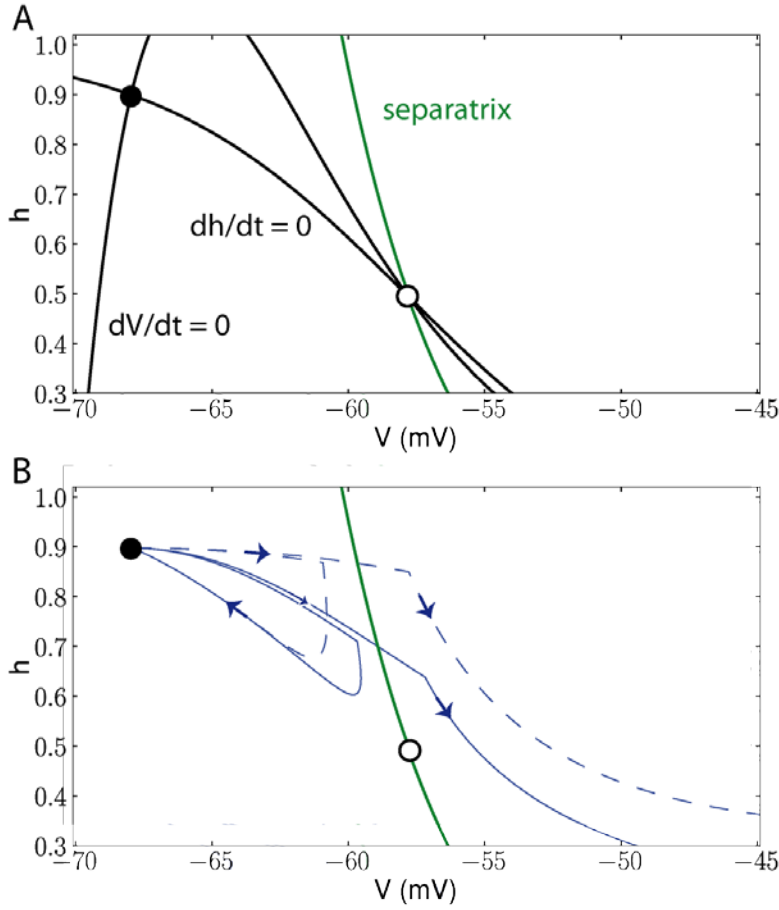
### C. Geometrical analysis of threshold dynamics.

The excitability model is a two-dimensional dynamical system for the variables  $V$  and  $h$ . A classical approach is to look at trajectories in the  $(V, h)$  phase plane. Here we show that this approach yields qualitatively similar results as the simplified approach we have presented.

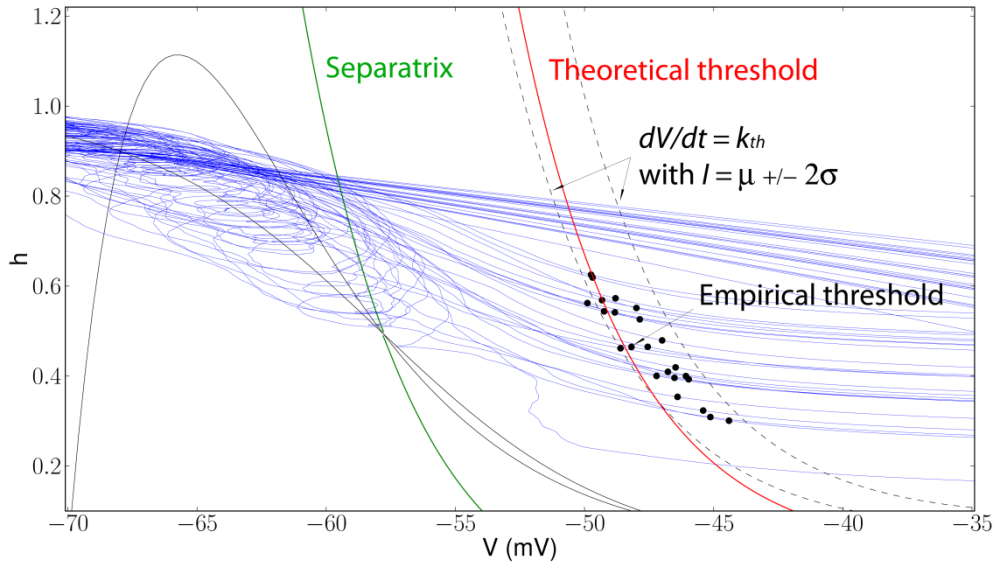
We consider the excitability model and assume that the parameter values are such that the system has three equilibria, which are geometrically represented by the intersection of the two nullclines ( $\frac{dV}{dt} = 0$  and  $\frac{dh}{dt} = 0$ , Fig. S2A). The direction of trajectories is given by the signs of  $dV/dt$  and  $dh/dt$ . From the equations, we find:  $\frac{dh}{dt} > 0$  below the  $h$ -nullcline, and  $< 0$  above;  $\frac{dV}{dt} > 0$  above the  $V$ -nullcline, and  $< 0$  below. It follows that all trajectories diverge from the middle equilibrium, except two trajectories, called separatrices (Fig. S2A, green). Thus, this equilibrium is a saddle point and the separatrices are a threshold line<sup>11</sup>: every initial condition on its left leads to a subthreshold trajectory; every initial condition on its right leads to a suprathreshold trajectory. Because of the signs of  $dh/dt$  and  $dV/dt$ ,  $V$  is a decreasing function of  $h$  along these separatrices. In other words, the voltage threshold is a decreasing function of  $h$ .

Let us consider now that the system is stimulated by a pulse input. If this pulse is short and large (ideally, a Dirac), the trajectory of the system will be almost horizontal in  $(V, h)$  (Fig. S2B, dashed blue). Otherwise, the trajectory of the system will lie below this horizontal line (Fig. S2B, solid blue). As the input gets slower, the trajectory shifts downward and, because of the inclination of the separatrices, the voltage at threshold increases. This results in a negative correlation between depolarization slope and threshold, as expected.

For fluctuating inputs, the approach based on the separatrix turns out to be quantitatively less accurate than the threshold equation, as is shown in Fig. S3.



**Figure S2.** Threshold dynamics in the  $(V, h)$  phase plane. A, The two nullclines of the excitability model (black curves,  $dV/dt=0$  and  $dh/dt=0$ ) intersect at the resting point (black dot), which is stable, and at an unstable point (white circle). Spikes are triggered when trajectories cross the separatrix (green curve). B, Sample trajectories with pulse input currents: because of the orientation of the separatrix, spikes are triggered at lower voltages with fast depolarization (dashed) than with slow depolarization (solid).



**Figure S3.** Trajectories in the  $(V, h)$  plane with fluctuating inputs (mean  $\mu = 0$  mV, standard deviation  $\sigma = 15$  mV, autocorrelation time constant  $\tau_I = 2$  ms). In this case, our theoretical threshold prediction (red, using the threshold equation) is more accurate than the separatrix (black dots are spike onsets, measured with the empirical first derivative method, and the dashed lines represent the first derivative criterion in the model equations, with  $I = \mu \pm 2\sigma$ ; the input current appears in the membrane equation and varies at spike initiation).

## References

1. Platkiewicz, J. & Brette, R. A threshold equation for action potential initiation. *PLoS Comput Biol* 6(7): e1000850. doi:10.1371/journal.pcbi.1000850 (2010).
2. Baranauskas, G. & Martina, M. Sodium currents activate without a Hodgkin-and-Huxley-type delay in central mammalian neurons. *J Neurosci* **26**, 671–684 (2006).
3. Angelino, E. & Brenner, M.P. Excitability constraints on voltage-gated sodium channels. *PLoS Comput Biol* **3**, 1751–1760 (2007).
4. Fourcaud-Trocmé, N., Hansel, D., Vreeswijk, C.V. & Brunel, N. How spike generation mechanisms determine the neuronal response to fluctuating inputs. *J Neurosci* **23**, 11628–11640 (2003).
5. Badel, L. et al. Dynamic I-V curves are reliable predictors of naturalistic pyramidal-neuron voltage traces. *J Neurophysiol* **99**, 656–666 (2008).
6. Brette, R. & Gerstner, W. Adaptive exponential integrate-and-fire model as an effective description of neuronal activity. *J Neurophysiol* **94**, 3637–3642 (2005).
7. Jolivet, R. et al. The quantitative single-neuron modeling competition. *Biol Cybern* **99**, 417–426 (2008).
8. Henze, D.A. & Buzsáki, G. Action potential threshold of hippocampal pyramidal cells in vivo is increased by recent spiking activity. *Neuroscience* **105**, 121–130 (2001).
9. Rinzel & Ermentrout Analysis of neural excitability and oscillations, Methods in neuronal modeling: From synapses to networks. 135 – 169 (1989).



# Discussion

---

## 5.1 Critiques de l'analyse

Nous allons maintenant reprendre avec un regard critique les deux études que nous avons présentées. En somme, nous allons détailler les discussions faites dans chacune de ces études. Nous nous concentrerons d'abord sur la discussion des hypothèses et approximations faites. Nous verrons ensuite dans quelle mesure nous avons répondu aux problématiques posées.

### Hypothèses neurophysiologiques

**1. Variabilité du seuil.** Nos études ont été motivées essentiellement par les nombreuses observations *in vivo* d'une forte variabilité du seuil. Comme nous l'avons vu au premier chapitre, cela avait déjà été observé d'une certaine manière *in vitro*, essentiellement dans l'axone du calamar (cf. 1.3). Néanmoins, nos études ne sont pertinentes que dans la mesure où cette variabilité est présente *in vivo* et dans les neurones centraux.

Nous avons résumé au second chapitre l'ensemble des observations *in vivo* relatives à la variabilité du seuil (cf. 2.4). Par ailleurs, nous pouvons mentionner que nous avons mesuré une forte variabilité du seuil sur des données provenant d'enregistrements intracellulaires (cf. Fig. 5.1). Plus précisément, nous avons participé aux compétitions de prédiction des instants de décharge (Jolivet et al., 2008b) et mesuré le seuil dans les traces de potentiel mises à disposition. Ces traces proviennent d'enregistrements *in vitro* au soma dans des neurones corticaux avec injection de courant fluctuant<sup>1</sup>. Il est possible que cette variabilité soit artefactuelle, due à l'enregistrement au soma. Cependant, nous avons observé aussi une adaptation du seuil à la pente de dépolarisation dans certains enregistrements et à la fréquence de décharge dans d'autres, suggérant que cette variabilité est bien causée par les mécanismes biophysiques. Ainsi, au vu du nombre d'observations de la variabilité et de l'adaptation du seuil, faites de plus dans différentes aires cérébrales, il semble qu'il est pertinent d'avoir étudié ce phénomène. Néanmoins, il est important de rappeler que ces observations concernent essentiellement les neurones corticaux dans les états de haute-conductance.

---

1. Le courant était généré soit directement par un processus d'Ornstein-Uhlenbeck, soit à partir de conductances synaptiques générées par des processus d'Ornstein-Uhlenbeck.



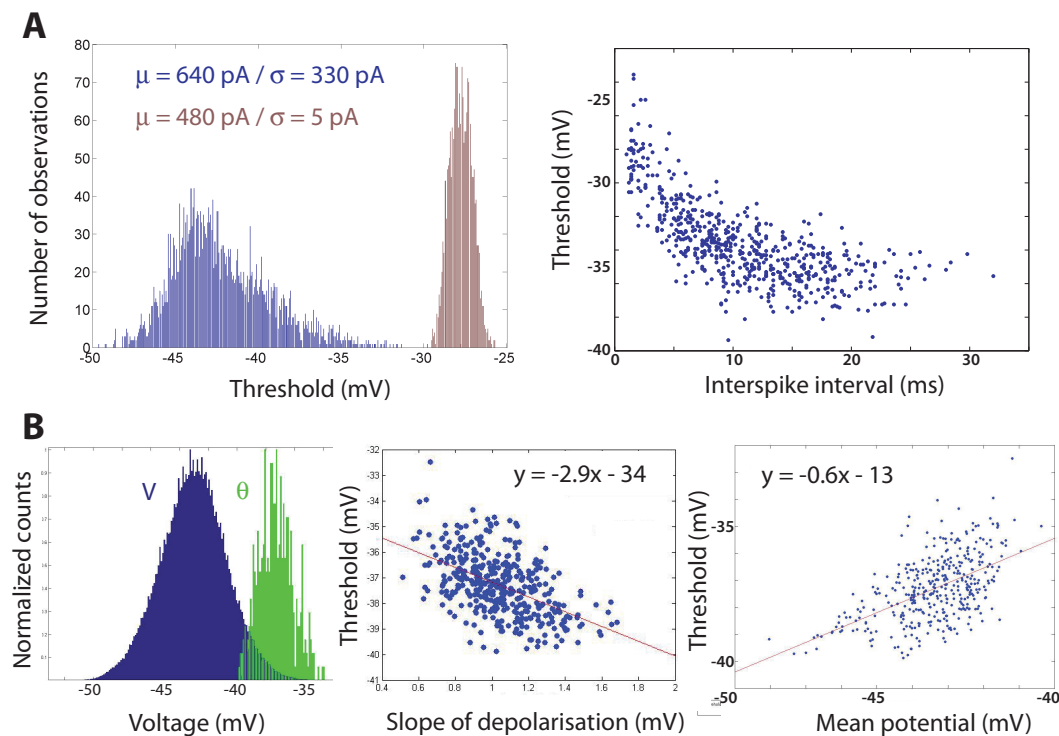


FIGURE 5.1 – Variabilité et adaptation du seuil. A. Mesures du seuil pour les traces de potentiel mises à disposition pour la compétition “Quantitative single-neuron modeling 2007” (Jolivet et al., 2008b) (méthode avec  $dV/dt$ ). Les enregistrements ont été réalisés dans des neurones corticaux avec injection de courant généré par un processus d’Ornstein-Uhlenbeck. La mesure de  $V$  est faite au soma. (A gauche) La variabilité du seuil est substantielle et dépend de l’écart-type du courant d’entrée. (A droite) Le seuil est négativement corrélé à la durée écoulée depuis l’impulsion précédente. B. Mesures du seuil pour les traces de potentiel mises à disposition pour la compétition “Quantitative single-neuron modeling 2008”. Les enregistrements ont été réalisés dans des neurones corticaux avec injection de conductances “synaptiques” générées par des processus d’Ornstein-Uhlenbeck. La mesure de  $V$  est faite au soma. (A gauche) La variabilité du seuil est substantielle et dépend de l’écart-type du courant d’entrée. (A droite) Le seuil est négativement corrélé à la durée écoulée depuis l’impulsion précédente.

**2. Approximation exponentielle.** Notre analyse quantitative du modèle HH a été grandement facilitée par l'approximation que le courant sodium puisse être décrit, à l'initiation des PA, par un terme croissant exponentiellement en  $V$ . Nous avons justifié cette approximation par plusieurs hypothèses neurophysiologiques : l'activation est instantanée, les variations de  $V$  avant l'initiation sont faibles par rapport à l'amplitude des PA et les ordres de grandeurs des différentes constantes biophysiques autorisent ces approximations ( $m = m_\infty$ ,  $E_{Na} - V \approx E_{Na} - V_a$  et  $e^{-(V-V_a)/k_a} \gg 1$ ). Néanmoins, cette approximation a été aussi validée par de nombreuses études phénoménologiques dans les neurones corticaux. Nous avons vu en effet au second chapitre que le modèle intègre-et-tire exponentiel s'est révélé être très efficace pour prédire les instants de décharge et la courbe  $I - V$ , obtenues à partir d'enregistrements *in vitro* avec injection de courant fluctuant (cf. 2.3).

**3. Montée abrupte des potentiels d'action.** Implicitement, notre analyse repose sur la conception que la montée des PA est abrupte. Si cette conception est valide, il est alors possible de définir clairement la phase d'initiation des PA : c'est la courte période (de l'ordre de 1 à 10 ms) précédant le déclenchement des PA, sur laquelle les variables ioniques, autres que celle d'activation, peuvent être considérées comme lentes. Cette phase fait partie du régime dit sous le seuil. Après l'instant de déclenchement des PA,  $V$  suit une trajectoire stéréotypée et les variables ioniques peuvent évoluer très rapidement. Cette dernière est appelée régime au-dessus du seuil. De plus, ces deux phases seront d'autant plus nettement séparées que la montée des PA est abrupte.

Cette conception est aussi cruciale pour que le lien entre prédictions sur le seuil d'excitabilité et observations pour le seuil *in vivo* soit pertinent. En effet, plus la phase de montée des PA est abrupte, plus la mesure du seuil empirique sera précise et reflètera bien la valeur réelle du seuil d'excitabilité. Nous avons présenté ce point à la fin du second chapitre (cf. 2.4).

Enfin, cela justifie la pertinence des modèles intègre-et-tire à seuil abrupt dans le cadre de l'étude de l'intégration synaptique. Nous rappelons que pour ces modèles une impulsion est supposée être déclenchée dès que  $V$  dépasse le seuil. Dans notre seconde étude, plusieurs prédictions relatives à l'intégration synaptique ont été établies à partir de modèles de ce type. Néanmoins, comme l'ont souligné Fourcaud-Trocme et al. (2003), la prise en compte d'un seuil abrupt peut avoir de nombreuses implications fonctionnelles et peut s'avérer limité pour l'étude de la transmission de certains types de signaux.

Dans les trois premiers chapitres, nous avons mentionné un certain nombre d'études convergeant sur l'hypothèse d'une montée rapide des PA :

- Dans le deuxième chapitre, nous avons vu que : Baranauskas and Martina (2006) ont observé que leur modèle cinétique du canal sodium, établi à partir des enregistrements dans des neurones centraux, donnait une montée plus rapide des PA que les modèles HH standards de neurones centraux (cf. 2.1).
- Mainen et al. (1995) ont observé, dans des simulations numériques détaillées

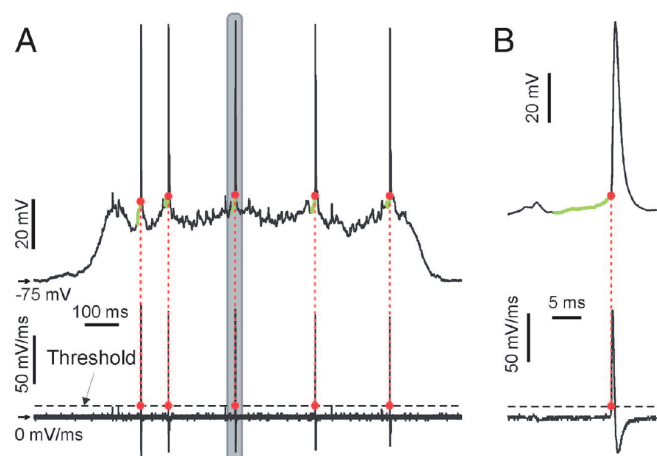


FIGURE 5.2 – Périodes d’initiation des potentiels d’action. A. (En haut) Trace du potentiel membranaire enregistrée *in vivo* dans les neurones néocorticaux. Le seuil mesuré est représenté par les points rouges. On distingue bien un régime sous le seuil, correspondant aux fluctuations de  $V$ , et un régime au-dessus du seuil, correspondant aux trajectoires stéréotypées des PA. Les traits verts correspondent à la phase d’initiation des PA. (En bas) Trace de  $dV/dt$  correspondant, utilisée pour mesurer le seuil. B. Grossissement d’un PA et de  $dV/dt$  correspondant. On peut remarquer que la montée des PA est clairement abrupte. Néanmoins, ces mesures ont été effectuées au soma. (Extrait de (Léger et al., 2005))

de modèle HH de neurones corticaux, que la vitesse de montée au soma est plus lente lorsque l’axone est tronqué au-delà du SIA (cf. 2.1). Autrement dit, la forte densité en canaux Nav au SIA augmente significativement la vitesse de montée au soma. Cette observation a été confirmée par plusieurs études expérimentales et numériques (McCormick et al., 2007; Kole et al., 2008; Yu et al., 2008; Hu et al., 2009) (cf. 3.2). Néanmoins, selon ces auteurs, il n’est pas clair que cette forte densité augmente la vitesse de montée à l’axone.

- Naundorf et al. (2006) ont mesuré dans les neurones corticaux une vitesse de montée au soma très grande (cf. 3.2).
- Colwell and Brenner (2009) ont montré dans une étude théorique à partir d’un modèle type HH ponctuel que cette vitesse de montée peut être très grande selon les fluctuations de l’entrée (cf. 2.4).
- Nous pouvons ajouter que Chow and White (1996) notent une plus grande vitesse de montée dans un modèle de type HH ponctuel où les fluctuations intrinsèques dans l’ouverture des canaux Nav sont prises en compte. Les auteurs expliquent que l’amplitude de ce bruit, de type multiplicatif, est très faible au niveau du potentiel de repos et augmente de façon brusque au-delà du voltage seuil. Cela a pour conséquence d’accélérer la montée du potentiel à l’initiation des PA par rapport au cas où ces fluctuations ne sont pas prises en compte.
- Dans notre première étude, nous avons noté que la vitesse de montée au site d’initiation était bien plus grande pour le modèle multi-compartmental que

pour le modèle ponctuel.

En somme, de nombreuses observations expérimentales et nos propres mesures dans les simulations numériques laissent à penser que la montée des PA est effectivement bien abrupte au site d'initiation pour les neurones centraux, bien que moins qu'au soma.

**4. Variations lentes des processus ioniques.** Dans notre première étude, les contributions des différents mécanismes ioniques au seuil ont pu être décrites quantitativement grâce à des approximations sur les ordres de grandeur des différentes constantes de temps. Plus précisément, nous avons supposé que les processus ioniques, autre que l'activation du courant Na, ont une évolution relativement lente par rapport à celle de V dans la phase d'initiation des PA. Nous avons vu au chapitre 3 que les différentes mesures de la cinétique de l'inactivation donnent des temps caractéristiques de l'ordre, supérieurs et même parfois bien supérieurs à la constante de temps membranaire (cf. 3.2). En ce qui concerne les courants hyperpolarisants, comme le courant K rapide, cela peut être justifié par différents arguments. Les voltages au seuil d'activation des canaux responsables de ces courants sont en général bien supérieurs au seuil (de l'ordre de -25 mV pour le canal Kv1 (Kole et al., 2007)) ; les constantes de temps d'activation de ces courants sont en général de l'ordre ou supérieures à la constante de temps membranaire ; une des fonctions principales de ces courants est de ramener V au repos après le pic du PA (Johnston and Wu, 1995) ; une autre fonction de ces courants est de moduler la fréquence de décharge et dans ce cas leurs variations sont très lentes à l'échelle de l'initiation des PA (Johnston and Wu, 1995). En ce qui concerne les courants synaptiques, cette approximation est justifiée pour la conductance inhibitrice ( $\tau_i \approx 10\text{ms}$ ) mais n'est pas réellement justifiée pour la conductance excitatrice ( $\tau_e \approx 2\text{ms}$ ).

## Hypothèses moléculaires

Nous allons maintenant rappeler les différentes hypothèses moléculaires faites dans nos études et essayer de les justifier. Pour cela, nous nous référerons à la fois aux études mentionnées dans les trois premiers chapitres et à des mesures que nous avons effectuées à partir d'enregistrements en "patch clamp". Plus précisément, ces mesures ont été faites sur des données similaires à celles étudiées par Angelino and Brenner (2007). Cependant, les auteurs avaient collecté les données uniquement à partir de la littérature. A la suite de cette étude, Michael Brenner a établi une collaboration avec le laboratoire d'Alan L. Goldin. Dans ce laboratoire, un très grand nombre d'enregistrements en "patch-clamp" ont été réalisés principalement dans des ovocytes de *Xenopus*. Pour chaque ovocyte, un seul type de canal Nav est exprimé par altération du bagage génétique de l'ovocyte. Il s'avère que même après expression des canaux Nav, la cellule n'est pas excitable. Néanmoins, cela permet de caractériser précisément du point de vue électrophysiologique un type de canal donné. Par la suite, nous avons effectué une collaboration avec Michael Brenner,

nous conduisant à analyser le très grand nombre d'enregistrements fournis par Alan Goldin ( $> 200$ ). Dans ces enregistrements, seuls les canaux de type Nav1.[1,2,4,5,6] étaient disponibles. De plus, de façon consistante, les protocoles disponibles comportaient ceux d'activation et d'inactivation. Ces protocoles standards en électrophysiologie des canaux ioniques sont destinés à établir les courbes d'activation et d'inactivation (cf. Fig. 5.3). Par ailleurs, le protocole d'activation peut être utilisé pour caractériser la dépendance au voltage des temps caractéristiques de l'inactivation (cf. Fig. 5.4). Néanmoins, cette dépendance peut être mieux caractérisée par un protocole qui lui est spécifique, appelé protocole de rétablissement ("recovery"). Enfin, ces enregistrements ne permettaient pas de mesurer précisément les constantes de temps d'activation, étant donné leur fréquence d'échantillonnage. Ces constantes sont en effet très petites et nécessitent des techniques d'enregistrement spécifiques. Ce travail en collaboration est en cours et ne figure donc pas dans le chapitre concernant les résultats. Néanmoins, nous pouvons présenter certaines mesures effectuées pour apporter quelques éléments empiriques à la discussion de nos études.

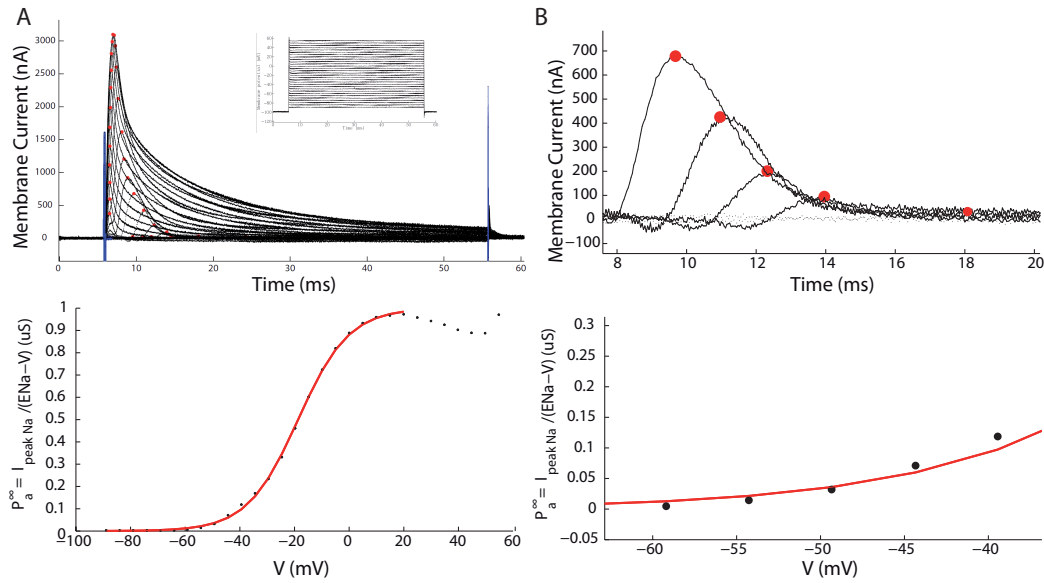


FIGURE 5.3 – Révision des courbes d'activation. A. (En haut) Mesures du courant membranaire en "patch-clamp" dans un ovocyte de *Xenopus* pour lequel seuls les canaux Nav1.6 ont été exprimés. L'ensemble des stimulations constitue le protocole d'activation. Les courbes en bleu correspondent à des artefacts expérimentaux. (En bas) Courbe d'activation correspondante établie à partir de la mesure des pics du courant (rond noir). Ajustement de la courbe par une fonction de Boltzmann (en rouge). B. (En haut) Mesures similaires à celles de A pour les voltages imposés correspondant à la plage de voltage à l'initiation des PA (entre -60 et -40 mV). (En bas) Courbe d'activation correspondante. La ligne rouge correspond à l'ajustement du A. L'ajustement par une fonction de Boltzmann sur l'ensemble des valeurs contrôlées de  $V$  n'est pas suffisamment précis dans ce cas. Un autre problème provient de l'influence du bruit dans la mesure des pics de courant pour ces voltages.

**1. Fonctions de Boltzmann.** Tout d'abord, nous avons supposé que les courbes d'activation et d'inactivation sont bien ajustées par des fonctions de Boltzmann  $\left(\frac{1}{1+e^{-(V-V_{1/2})/k}}\right)$ . Cette approximation s'est révélée cruciale pour nos études, dans la mesure où cela nous a permis d'obtenir : une expression analytique du seuil en fonction des variables ioniques, dans notre premier étude ; des conditions explicites sur les paramètres d'inactivation pour avoir un seuil potentiellement variable et dynamique. Dans le chapitre 3, nous avons justifié théoriquement cette description pour une transition d'état élémentaire (cf. 3.2) et nous avons étendu cette justification dans un cas plus général dans la suite de cette discussion (cf. 3.2). Cette fonction découle essentiellement de l'approximation que les énergies de conformation d'un canal ionique sont distribuées à l'équilibre selon une loi de Boltzmann. Par ailleurs, dans de nombreuses études, les courbes d'activation et d'inactivation des canaux Nav sont ajustées par des fonctions de Boltzmann. Par exemple, dans les nombreuses données collectées par Angelino and Brenner (2007), des fonctions de Boltzmann uniquement avaient été utilisées et donnaient des barres d'erreur relativement faibles (de l'ordre de 1 mV pour  $V_a$  et  $V_i$  et 0.1 mV pour  $k_a$  et  $k_i$ ). De plus, dans le jeu de données que nous avons collecté, pour la seconde étude, à partir des études en "patch-clamp" dans les neurones centraux, presque la totalité des résultats avaient été obtenue avec des fonctions de Boltzmann. Enfin, dans les mesures effectuées sur les données du laboratoire d'Alan Goldin, nous avons aussi observé que les fonctions de Boltzmann sont des bonnes descriptions des courbes d'activation et d'inactivation. Nous avons mesuré des incertitudes sur les mesures de l'ordre de 1.5 mV pour  $V_a$  et  $V_i$  et de l'ordre de 1.2 mV pour  $k_a$  et  $k_i$ .

En somme, il existe de nombreuses évidences empiriques que les dépendances en voltage des paramètres d'activation et d'inactivation sont bien décrites à l'équilibre par des fonctions de Boltzmann. Néanmoins, nous avons vu dans la première étude, notamment à partir du modèle multi-compartimental de Hu et al. (2009), que pour bien prédire les variations du seuil, il est nécessaire d'ajuster les courbes d'activation localement dans la zone d'initiation des PA (entre -60 et -40 mV). En général, l'ajustement de ces courbes par des fonctions de Boltzmann sur toute la plage de V imposée ne donne pas un ajustement précis dans la zone d'initiation (cf. Fig. 7 et Fig. 5.3). Cela implique, dans le cadre de notre prédiction pour le seuil, qu'il est nécessaire de ré-ajuster les courbes d'activation par des fonctions de Boltzmann uniquement dans la zone d'initiation. Néanmoins, les mesures sont souvent corrompues par du bruit dans cette zone (cf. Fig. 5.3). Cela tient notamment au fait que le pic du courant Na est plus beaucoup plus faible pour ces valeurs du voltage. Nos études suggèrent donc une réexamination des courbes d'activation pour les neurones centraux, en se concentrant sur la zone d'initiation. Il est intéressant de signaler que cette remarque avait déjà été faite par Fourcaud-Trocme (2003).

**2. Activation instantanée.** Une autre hypothèse fondamentale que nous avons faite porte sur la constante de temps d'activation du courant Na. Plus précisément, nous avons supposé que l'activation est instantanée. Cette approximation est

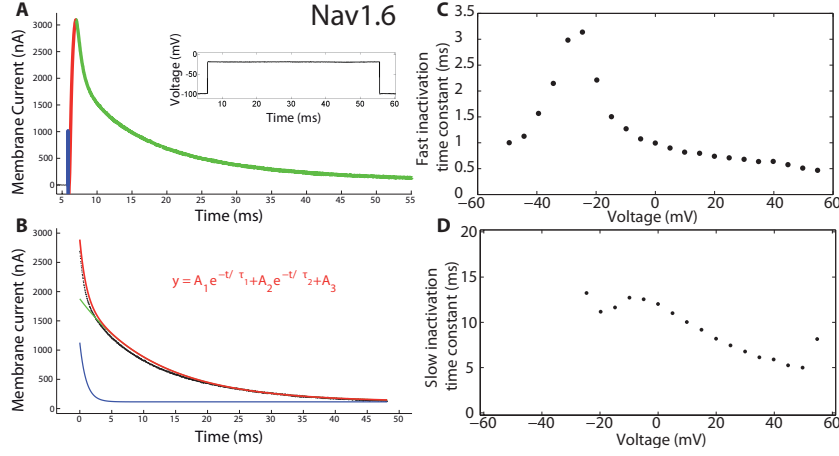


FIGURE 5.4 – Mesure des constantes de temps d’inactivation rapide du canal Nav. Ces constantes de temps ont été mesurées à partir des protocoles d’activation (voir Fig. 5.3). A. Pour chaque valeur du voltage imposé, la partie décroissante du décours temporel du courant membranaire est extraite des enregistrements. Nous avons représenté ici la trace du courant pour une seule valeur du voltage, provenant d’un enregistrement dans un ovocyte où seul le canal Nav1.6 a été exprimé. B. Cette courbe est ensuite ajustée par une fonction à deux exponentielles décroissantes, avec les contraintes sur les paramètres suivantes :  $A_1 > A_2$  et  $\tau_1 < \tau_2$ . La courbe en rouge représente l’ajustement par cette fonction. La courbe en bleu représente l’ajustement pour l’exponentielle simple à décroissance rapide ( $y = A_1 e^{-t/\tau_1} + A_3$ ) et la courbe en bleu représente l’ajustement pour l’exponentielle simple à décroissance lente ( $y = A_2 e^{-t/\tau_2} + A_3$ ). C. Dépendance au voltage de la constante de temps d’inactivation rapide, mesurée à partir du protocole décrit. D. Dépendance au voltage de la constante de temps d’inactivation lente, mesurée à partir du protocole décrit.

classique (Koch, 1999) et est justifiée par des mesures récentes dans les neurones centraux, comme nous l’avons vu dans le troisième chapitre (cf. 3.2).

**3. Indépendance activation - inactivation.** Nous pouvons aussi discuter d’une autre hypothèse sur laquelle nos études reposent, concernant l’expression de la conductance Na. Comme pour le modèle HH, nous avons supposé que cette conductance peut s’écrire sous la forme :

$$g_{Na} = \bar{g}_{Na} P_a^\infty(V) h$$

ou encore que :

$$\frac{g_{Na}}{\bar{g}_{Na}} = P_a^\infty(V) h$$

avec  $\bar{g}_{Na}$  la conductance Na maximale,  $P_a^\infty(V)$  la fonction correspondant à la courbe d’activation et  $h$  le terme d’inactivation.  $\frac{g_{Na}}{\bar{g}_{Na}}$  quantifie le degré de perméabilité aux ions  $\text{Na}^+$  de la membrane. Cependant, nous avons vu au chapitre 3 que l’activation et l’inactivation du canal Nav ne sont pas indépendantes (cf. 3.2). Autrement dit, il n’est pas possible d’exprimer la probabilité d’ouverture du canal en factorisant les

variables d'activation et d'inactivation. Tout d'abord, il est important de préciser que notre hypothèse concerne les propriétés de la membrane et non celle du canal unique. De plus, il est possible de justifier la factorisation dans l'expression de  $g_{Na}$  à partir d'un argument sur la séparabilité des temps caractéristiques. Nous avons rappelé précédemment que de nombreuses mesures en "patch-clamp" des cinétiques d'activation du courant Na convergent sur l'hypothèse que l'activation est instantanée à l'échelle de la dynamique de  $V$ . Nous pouvons donc écrire pour le degré de perméabilité :

$$\frac{g_{Na}}{\bar{g}_{Na}} = f_1(V, m, h)$$

où  $f_1$  est une fonction non déterminée. En supposant l'activation instantanée, nous avons :

$$m = m_\infty(V)$$

Par conséquent, la probabilité considérée ne dépend plus que de  $V$  et  $h$  :

$$\frac{g_{Na}}{\bar{g}_{Na}} = f_2(V, h)$$

où la fonction  $f_2$  est définie par  $f_2(V, h) = f_1(V, m_\infty(V), h)$ . Notre hypothèse revient donc au final à supposer que la fonction  $f_2$  puisse s'écrire sous la forme :

$$f_2(V, h) = f_3(V)h$$

avec  $f_3$  une fonction non déterminée. Dans nos études, nous avons considéré que  $f_3$  peut être approximée par une fonction exponentielle.

**4. Rôle prédominant de l'inactivation.** Nous nous sommes concentrés dans la seconde étude sur le rôle prépondérant de l'inactivation du canal Nav pour la dynamique du seuil. Nous avons établi une condition sur les paramètres de courbes d'inactivation,  $(V_i, k_i)$ , pour obtenir une variabilité potentielle du seuil. Nous avons mis en évidence que les valeurs des paramètres d'inactivation, provenant d'enregistrements en "patch-clamp" dans les neurones centraux, vérifiaient bien cette condition. Cela renforce la plausibilité de notre hypothèse concernant l'influence de l'inactivation.

A partir des mesures faites sur les enregistrements provenant du laboratoire d'Alan Goldin, nous avons vérifié de nouveau si cette condition était satisfaite. De façon intéressante, il s'avère que seules les mesures correspondant aux canaux Nav1.6 satisfont bien les conditions de variabilité du seuil (voir Fig 5.5).

Il est intéressant de se poser la question de la fonction biologique de l'inactivation. L'influence supposée prépondérante de l'inactivation sur la dynamique du seuil pourrait être justifiée par des arguments de coût métabolique. Une étude expérimentale et numérique récente a mis en évidence le caractère peu coûteux en énergie de l'inactivation (Alle et al., 2009). Plus précisément, ils ont observé, dans la fibre moussue de l'hippocampe, que les dynamiques respectives du courant Na et K sont agencées de telle sorte que le coût énergétique associé à un PA est minimisé. Cela peut se



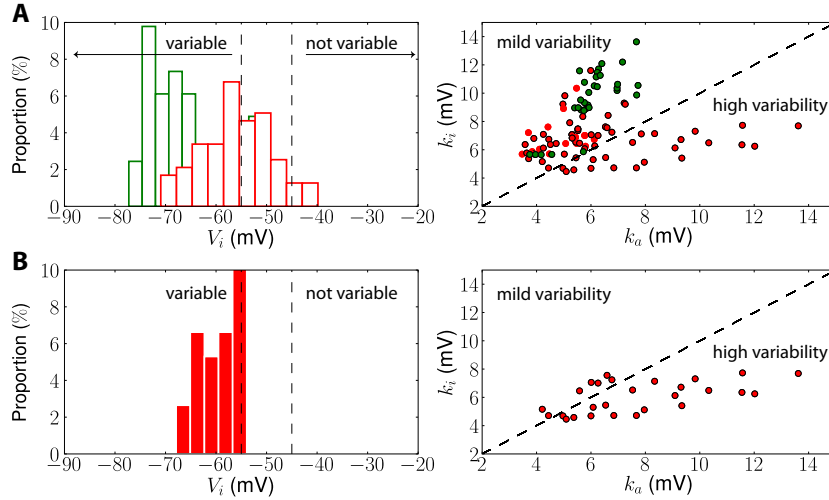


FIGURE 5.5 – Test des conditions de variabilité du seuil. Figure similaire à la Figure 3 de la seconde étude pour les mesures effectuées sur les enregistrements du laboratoire d’Alan Goldin. A. Code couleur similaire à la Figure 3 : canaux des neurones centraux en rouge (seuls Nav1.[1,2,6] étaient disponibles), canaux des cellules musculaires en vert (Nav1.[4,5]). B. Mesures correspondant uniquement aux canaux Nav1.6 supposés être responsable de l’initiation des PA dans les neurones centraux. De façon intéressante, ces canaux vérifient bien les conditions de variabilité du seuil, contrairement aux autres canaux.

comprendre en réalisant que contrairement au courant K, l’inactivation régule l’excitabilité sans transfert de charges. Ainsi, l’inactivation serait le mécanisme le moins coûteux en énergie pour empêcher la décharge. A contrario, le courant K serait le mécanisme le plus efficace pour repolariser la membrane après la génération d’un PA.

Par ailleurs, nous pouvons mentionner que l’inactivation est présente dans tous les types de canaux Nav et semble présenter des cinétiques similaires pour ces différents types de canaux (Goldin, 2001). Nous avons confirmé cette hypothèse dans nos mesures. Nous avons observé que les constantes de temps de l’inactivation rapide pour les différents canaux étudiés étaient du même ordre de grandeur (voir Fig. 5.8). De plus, pour la plupart des types de canaux étudiés, la constante de temps de l’inactivation était très grande, suggérant l’absence de ce mécanisme dans ces canaux. Néanmoins, nous avons observé que spécifiquement pour le canal Nav1.6, supposé responsable de l’initiation des PA dans les neurones centraux, on peut distinguer clairement deux processus dans l’inactivation : un très rapide et un très lent (voir Fig. 5.4). Cela laisse à penser que le mécanisme d’inactivation rapide a été bien conservé au cours de l’évolution naturelle.

## Réponses aux questions

La première question que nous avons posée concerne la variabilité du seuil. Nous avons vu qu'elle semblait substantielle dans de nombreuses observations *in vivo*. Néanmoins, il n'est pas clair que cette variabilité reflète l'action des mécanismes biophysiques. En effet, nous avons vu dans le deuxième chapitre que certains auteurs affirmaient qu'elle était principalement artefactuelle (cf. 2.4). L'enjeu de cette question porte d'une part sur l'intégration synaptique. Si la variabilité est principalement artefactuelle, la forme des PPS est bien décrite par le déroulement temporel du voltage uniquement. De plus, comme l'a mis en évidence la controverse entre Naundorf et al. (2006) et McCormick et al. (2007), l'enjeu porte aussi sur la pertinence des hypothèses du modèle HH. Si le modèle HH ne prédit pas conjointement une forte variabilité du seuil et une vitesse de montée des PA élevée, mais que cela est observé *in vivo* au site d'initiation, les hypothèses du modèle HH devront être révisées.

Nous avons montré qu'il est possible d'obtenir un seuil variable pour le modèle HH. Cette variabilité est fortement dépendante de la variabilité de l'entrée. Nous avons évoqué dans le second chapitre que la mesure empirique du seuil en condition *in vivo* pouvait apporter une variabilité substantielle du seuil (cf. 2.4). Néanmoins, nous avons montré dans la première étude, que les fluctuations des conductances synaptiques contribuent directement à la variabilité du seuil d'excitabilité. Si la mesure empirique est fiable, les variations observées reflèteront correctement ces contributions et non un artefact. Il est donc nécessaire de prendre en compte la dynamique de l'entrée pour prédire la dynamique du seuil.

Par ailleurs, nous avons montré que la variabilité de l'entrée agit aussi sur celle du seuil indirectement, via la dépendance au voltage des variables ioniques. Nous avons montré de plus que ce lien n'est pas nécessairement présent. Dans la première étude, nous avons observé que le modèle de Destexhe et al. (2001) tel quel (sans modification des paramètres) ne donne pas de variabilité du seuil due aux variables ioniques. Dans la seconde étude, nous avons montré que l'existence d'une telle variabilité dépendait essentiellement des valeurs relatives entre les paramètres d'inactivation (essentiellement  $V_i$ ) et la valeur du seuil ( $V_T$ ). Ce point en particulier est important pour l'intégration synaptique et la pertinence des hypothèses HH. En effet, du point de vue de l'intégration synaptique, cela peut impliquer une adaptation du seuil à l'entrée, dont nous avons étudié une forme dans la seconde étude. Du point de vue du modèle HH, cela donne un résultat intermédiaire entre celui de Naundorf et al. (2006) et celui de McCormick et al. (2007). D'après nos prédictions, les résultats de McCormick et al. (2007) relativement au modèle HH sont justifiées dans la mesure où ce modèle peut prédire un seuil peu variable au site d'initiation. Pour cela, il suffit de régler les paramètres du modèle de façon adéquate, par exemple en translatant la courbe d'inactivation du courant Na vers les potentiels plus élevés. De plus, les observations de Naundorf et al. (2006) sont à priori confirmées par nos mesures à partir de simulations numériques du modèle multi-compartmental de Hu et al. (2009) : variabilité élevée du seuil et montée

rapide des PA au site d'initiation. Il est à noter que ces observations tiennent principalement au modèle utilisé, prenant en compte entre autres la diversité des canaux Nav au site d'initiation. Néanmoins, la révision des hypothèses fondamentales du modèle HH ne semble pas nécessaire pour reproduire ces observations.

La deuxième problématique concerne la dynamique du seuil. Nous avons vu au second chapitre que de nombreuses observations *in vivo* mettaient en évidence un seuil fortement dynamique (cf. 2.4). De plus, ces observations donnaient plusieurs caractéristiques quantitatives de cette dynamique. L'enjeu de cette problématique porte essentiellement sur l'intégration synaptique et pourrait porter sur la sélectivité sensorielle, comme l'ont suggéré Azouz and Gray (2003); Wilent and Contreras (2005b). Si l'adaptation du seuil à la dynamique de  $V$  est significative, l'hypothèse d'un codage sensoriel basé sur les instants de décharge est renforcée. Par ailleurs, cette problématique porte aussi sur le modèle HH. S'il s'avère que la dynamique du seuil est une propriété caractéristique des neurones centraux, un modèle biophysique de neurone doit pouvoir donner une description simple de cette dynamique. Par conséquent, si le modèle HH n'est pas en mesure de donner une telle description, sa pertinence pour les neurones centraux pourra être reconsidérée.

Nous avons montré qu'il est possible d'obtenir un seuil dynamique à partir du modèle HH. Plus précisément, nous avons montré dans la seconde étude, que les dynamiques du seuil observées *in vivo* peuvent être reproduites simplement en tenant compte de l'inactivation du courant Na. Dans la discussion de cette étude, nous avons vu qu'il existe d'autres mécanismes biophysiques possibles pour reproduire tel ou tel comportement du seuil observé. Néanmoins parmi ces autres mécanismes, seul l'activation du courant K rapide permettrait de reproduire les différentes caractéristiques de la dynamique du seuil.

Enfin, nous avons étudié la dynamique du seuil en réponse à un courant décrit par un processus d'Ornstein-Uhlenbeck. Cela a été validé empiriquement dans les neurones corticaux dans les états de haute-conductance, comme nous l'avons vu au second chapitre (cf. 2.2). Néanmoins, nous avons montré que même si le modèle donne un seuil dynamique, il sera fixe pour des vitesses de dépolarisation à l'initiation des PA suffisamment grandes (cf. Fig. 5 de la seconde étude). La dynamique de l'entrée joue donc un rôle crucial pour l'observation d'un seuil dynamique. Autrement dit, bien que les équations puissent prédire un seuil dynamique et les paramètres de ces équations puissent autoriser une grande variabilité du seuil, le seuil pourra être fixe pour certaines dynamiques de l'entrée. Il est possible que la dynamique du seuil soit mieux observable pour des entrées présentant des corrélations temporelles fines, comme décrites dans le second chapitre (cf. 2.2).

## 5.2 Implications

Nous allons maintenant aborder les implications de nos résultats pour différents aspects : la transmission du signal par les neurones centraux, la pertinence du modèle

HH pour les neurones centraux et les contraintes imposées par l'excitabilité sur les canaux Nav. Les remarques que nous allons faire sont basées sur celles faites précédemment par d'autres auteurs, sur nos résultats et sur les difficultés rencontrées au cours de notre travail.

### Transmission du signal

Nous avons vu au paragraphe précédent que nos résultats confirment la validité du modèle HH pour décrire des phénomènes précis concernant le seuil d'excitabilité *in vivo*. En nous plaçant dans le cadre où les neurones centraux sont bien décrits par des modèles HH, nous allons évoquer les implications possibles de nos résultats pour la transmission du signal.

Nos études renforcent l'hypothèse que le seuil d'excitabilité est réellement variable *in vivo*. Cette variabilité serait ainsi principalement causée par les mécanismes ioniques de régulation de l'excitabilité. Cela implique que les neurones traitent activement les signaux d'entrée. Contrairement au modèle intègre-et-tire classique, la seule composante du signal décisive n'est plus uniquement le niveau du potentiel, mais aussi la dynamique de ce dernier à court et long-terme. Du point de vue de l'intégration synaptique, notre seconde étude confirme la plausibilité des hypothèses émises par Azouz and Gray (2000, 2003) (cf. 2.4). D'après ces hypothèses, le neurone cortical aurait des propriétés de modulation de gain et de détection de coïncidences adaptative. Notre étude a apporté une description plus quantitative de ces propriétés à partir de la notion de PPS effectif. Dans cette notion, la forme du PPS est caractérisée par la dynamique du potentiel  $V$  et du seuil  $\theta$  (plus précisément  $V - \theta$ ).

Même si nous avons abordé superficiellement cet aspect dans notre première étude, il semble que les PA soit initiés très rapidement au site d'initiation. Comme nous l'avons rappelé précédemment, cet aspect a été confirmé par différents auteurs. Fourcaud-Trocmé et al. (2003) souligne que plus cette montée est brusque, plus le temps de détection des signaux transitoires par les neurones est petit.

En conclusion, plusieurs aspects semblent donner raison aux observations de Naundorf et al. (2006). Néanmoins, cela n'aboutit pas nécessairement à la révision des hypothèses HH. Du point de vue théorique, cela confirme la pertinence du modèle intègre-et-tire à seuil dynamique pour l'étude de la transmission du signal nerveux. Par ailleurs, il est intéressant de mentionner une étude théorique récente ayant montré qu'un modèle intègre-et-tire à fuite et à seuil dynamique peut être dérivé à partir de l'hypothèse que le neurone effectue des inférences Bayésiennes sur les événements pré-synaptiques (Deneve, 2008) (la dynamique du seuil pour ce modèle correspond à celle décrite au chapitre 2, cf. 2.3). Enfin, comme l'ont fait Hill et al. (2008), il serait intéressant de considérer la question de l'initiation des PA du point de vue évolutionnaire. Dans cette perspective, nous pouvons simplement faire remarquer que pour les cellules cardiaques, le phénomène de seuil n'existe pas (décharge rythmique) et la durée totale des PA est extrêmement lente, de l'ordre

de 300 ms (Keating and Sanguinetti, 2001). Pourtant, le même canal ionique (le canal Nav) est responsable de la génération de PA dans les cellules nerveuses et cardiaques. Bien que le type de canal Nav exprimé dans ces deux cellules soit différent (Nav1.6 pour les neurones centraux et Nav1.5 pour les cellules cardiaques), de nombreuses études et nos mesures suggèrent que ces canaux ont des caractéristiques électrophysiologiques relativement similaires. Cela suggère que l'étude des canaux Nav ne suffit pas pour bien comprendre la spécificité de la réponse neuronale.

### Modèle Hodgkin-Huxley pour les neurones corticaux

Nous avons vu au premier chapitre que le modèle HH a été établi à partir d'expériences réalisées *in vitro* dans l'axone du calamar. Plus précisément, une grande partie de leurs hypothèses ont été établies à partir des stimulations en voltage imposé. Nous avons évoqué aussi que Hodgkin et Huxley n'avaient aucune connaissance et moyen d'observation de la structure moléculaire de l'axone. En somme, la conclusion du premier chapitre peut être que le modèle HH est une description de l'excitabilité à l'échelle d'une portion de membrane. Au vu de la qualité de prédiction des équations HH pour l'axone du calamar, ce dernier semble caractérisé par une faible diversité de canaux ioniques et par des paramètres biophysiques très homogènes. Cependant, nous avons évoqué au second chapitre que les neurones centraux présentent une diversité incroyable de canaux ioniques, une grande hétérogénéité dans les paramètres biophysiques et sont soumis à des entrées fortement fluctuantes. Ainsi, l'application du modèle HH à ces cellules n'est pas immédiate.

Néanmoins, nous avons mentionné au second chapitre que ce modèle s'appliquait bien dans les neurones centraux pour rendre compte de la cinétique des courants ioniques, du type d'excitabilité ou du phénomène d'initiation de PA (cf. 2.1). Bien que plusieurs expériences, comme celles de Baranauskas and Martina (2006), aient remis en cause certaines hypothèses, les hypothèses fondamentales du modèle HH sont considérées valides pour les neurones centraux. Par ailleurs, nos études ont confirmé que le modèle HH permet de rendre compte des phénomènes observés *in vivo* concernant le seuil d'excitabilité. Cela confirme que le modèle HH est bien transposable pour la description des comportements fortement stochastiques et non-linéaires.

D'une certaine manière, le succès de ces transpositions peut sembler naturel dans la mesure où ces descriptions concernent l'activité électrique de la membrane des neurones. Or, cette dernière est peu différente de celle de l'axone du calamar du point de vue biophysique. La plus grande complexité des neurones peut être prise en compte en considérant leur membrane comme un assemblage de membranes de constitution plus simple, comme cela est fait dans les modèles multi-compartimentaux. Néanmoins, cela peut conduire à des modèles d'une complexité mathématique bien plus grande que le modèle original. Ils ne sont alors analysables que par des simulations numériques. La question se pose alors de la pertinence du modèle. Plus généralement, nous pouvons nous demander : Est-ce qu'une description mathématique d'un phénomène est une bonne description si elle n'est pas analysable mathématiquement, mais seulement numériquement ? Dans notre première étude, nous avons montré

que la variabilité du seuil ne dépendait en pratique que d'une seule variable : la variable d'inactivation  $h$  mesurée au site d'initiation des PA. Autrement dit, seuls les paramètres de la courbe d'inactivation du courant Na au SIA peuvent contrôler la variabilité du seuil. Cependant, cet aspect est totalement obscur dans les modèles multi-compartimentaux étant donné le nombre de variables pouvant influencer sur la variabilité du seuil. Il est donc particulièrement difficile de conclure simplement à partir de simulations numériques d'un modèle multi-compartimental si le seuil est réellement variable ou non. Un tel modèle peut permettre de reproduire avec précision les observations expérimentales faites pour un neurone donné. Mais il n'est pas a priori pertinent pour prédire le comportement d'un autre neurone, même de constitution identique à celui étudié.

En pratique, nous avons rencontré des difficultés pour observer une variabilité significative du seuil dans les modèles de type HH. De plus, nous avons rencontré d'autres difficultés pour observer une relation seuil - pente de dépolarisation prononcée. Plusieurs facteurs expliquent ces difficultés :

- Les paramètres des modèles HH ont été ajustés pour décrire un phénomène donné. Il s'avère alors généralement que ces modèles ne sont pas adaptés pour décrire certains autres phénomènes.
- Bien que beaucoup plus simples du point de vue mathématique, les modèles de type HH ponctuels présentent certaines caractéristiques rendant particulièrement délicates les mesures empiriques ou les modifications de paramètres. Par exemple, les modèles ponctuels semblent présenter une vitesse de montée des PA beaucoup plus lente que les modèles multi-compartimentaux, même au niveau du site d'initiation. De plus, la modification de paramètres dans les modèles ponctuels donne souvent des PA de forme non-usuelle. En particulier, l'augmentation de l'inactivation rend le phénomène d'excitabilité beaucoup moins net, en réduisant fortement l'amplitude des PA.
- Les contraintes sur et entre les paramètres du modèle ne sont pas établies. Il s'avère donc peu pertinent d'utiliser les mesures expérimentales des paramètres dans le but d'explorer les comportements possibles de ces modèles. De plus, très souvent dans les modèles publiés, les paramètres ont été repris d'un autre modèle et/ou optimisés pour prédire un résultat expérimental. Il s'en suit donc que les valeurs exactes des paramètres peuvent ne pas correspondre aux valeurs expérimentales, rendant plus difficile l'adéquation de ces modèles avec les données expérimentales.

En somme, bien que les modèles de type HH permettent de bien rendre compte des différentes réponses neuronales, leur analyse théorique et leur adéquation avec les mesures expérimentales sont relativement délicates. Nous verrons dans le paragraphe suivant que la prise en compte des fonctions de Boltzmann pour les courbes d'activation et d'inactivation permet de faciliter l'étude du lien entre caractéristiques des canaux Nav et excitabilité.

### Influence des caractéristiques des canaux sodium

Dans nos études, nous avons essayé de donner une version du modèle HH à nombre de paramètres réduits tout en s'attachant à donner une description plausible. Nous avons rappelé au début de la discussion que cette simplification a été rendu possible par l'approximation exponentielle et l'étude spécifique de l'initiation des PA. Nous avons aussi rappelé que cela a été facilité par la prise en compte de fonctions de Boltzmann pour les courbes d'activation et d'inactivation, dont nous avons justifié la plausibilité au début de la discussion.

Il apparait ainsi que seuls quatre paramètres suffisent à décrire l'activation et l'inactivation à l'équilibre :  $(V_a, k_a, V_i, k_i)$ . Nous allons maintenant résumer les différentes influences de la modification de chaque paramètre sur les propriétés de l'excitabilité :

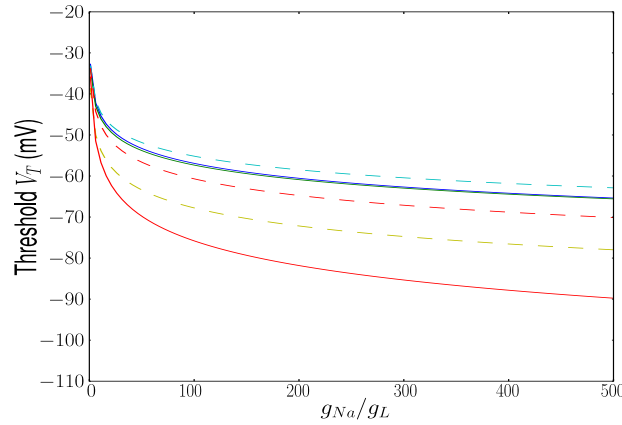


FIGURE 5.6 – Prédiction pour le seuil donné par les caractéristiques d'activation des canaux Nav1.[1,2,4,5,6]. Figure similaire à la Figure 3 de la première étude pour nos mesures directes. Code couleur identique à celui de la Figure 3. De façon intéressante, nous pouvons remarquer que le canal donnant le seuil le plus bas est le canal Nav1.6 (ligne rouge continue). La ligne rouge en pointillé correspond à un autre isoforme du canal Nav1.6.

- Le voltage à mi-hauteur de la courbe d'activation  $V_a$ , appelé aussi seuil d'activation, intervient essentiellement dans le seuil d'excitabilité. Néanmoins, nous avons vu que sa valeur ne suffit pas à déterminer la valeur du seuil. Plus précisément, nous avons établi dans la première étude que le voltage au seuil de courant pouvait s'exprimer en fonction des paramètres biophysiques par :

$$V_T = V_a - k_a \log \frac{\bar{g}_{Na}}{g_L} \frac{E_{Na} - V_a}{k_a}$$

Autrement dit, d'autres paramètres interviennent dans la valeur du seuil. Néanmoins, en pratique, c'est l'équilibre entre  $V_a$  et  $\bar{g}_{Na}/g_L$  qui déterminent la valeur de  $V_T$ , les autres paramètres pouvant être considérés comme fixes. Il est possible qu'en pratique ce ne soit essentiellement que le ratio  $\bar{g}_{Na}/g_L$  qui détermine la valeur de  $V_T$ . En effet, d'après le jeu de données portant sur les neurones centraux que nous avons constitué pour la seconde étude, les variations de  $V_a$  sont relativement faibles d'un neurone à l'autre (écart-type de 8

mV). De plus, nos mesures effectuées sur les données du laboratoire d'Alan Goldin confirment cette hypothèse (écart-type de 5.5 mV). De plus, comme nous l'avons évoqué au chapitre 3 (cf. 3.1), de nombreuses observations ont mis en évidence que la densité en canaux Nav pouvait être régulée par l'activité électrique ou par des composants moléculaires.

Nous avons vu à la fin du chapitre 3 que la valeur de  $V_a$  est cruciale pour autoriser la cellule à être excitable (cf. 3.3). Angelino and Brenner (2007) ont en effet établi que la condition d'excitabilité est donnée par :

$$V_a > E_L + 2k_a$$

Nous avons confirmé que cette condition était vérifiée pour les canaux étudiés dans nos mesures (voir Fig. 5.7).

- Le facteur de pente de la courbe d'activation  $k_a$  intervient à la fois dans la vitesse de montée des PA et dans la variabilité du seuil. Nous avons prédit théoriquement dans la première étude que le facteur de pente d'impulsion  $\Delta_T = k_a$  pour les modèles HH ponctuels<sup>2</sup>. Néanmoins, nous avons constaté dans un modèle multi-compartimental que cette égalité n'est plus valide. Plus précisément, nous avons mesuré que  $\Delta_T$  au site d'initiation est deux fois inférieure à  $k_a$ . Par ailleurs, nous avons établi que le terme modulé du seuil croît linéairement avec  $k_a$  ( $\theta - V_T \propto k_a$ ). Cela suggère que la variabilité du seuil sera d'autant plus grande que  $k_a$  est grand. Néanmoins, ces résultats sont à nuancer, les plages de variation de  $k_a$  étant restreintes. Pour les neurones centraux en particulier, le jeu de données que nous avons constitué donne un écart-type de 1,2 mV. D'après nos mesures directes, cet écart-type est de 1,8 mV pour l'ensemble des canaux étudiés.
- Le voltage à mi-hauteur de la courbe d'inactivation  $V_i$ , appelé aussi seuil d'inactivation, intervient essentiellement dans la variabilité et la dynamique du seuil. Nous avons montré dans la seconde étude que la comparaison entre sa valeur celle du seuil autorise ou non le seuil à être variable. En effet, d'après nos prédictions, le seuil ne peut pas être variable si :

$$V_i > V_T$$

De façon très intéressante, nos mesures relatives aux canaux Nav1.6 donnent des valeurs de  $V_i$  autorisant une certaine variabilité du seuil (voir Fig. 5.5). Cela confirme l'hypothèse que l'inactivation peut être responsable d'une variabilité substantielle du seuil. De plus, cela laisse à penser que cette variabilité peut être une caractéristique intrinsèque des neurones centraux.

Nous avons vu aussi dans la seconde étude que  $V_i$  intervient dans l'expression du seuil à l'équilibre :

$$\theta_\infty(V) = \frac{k_a}{k_i}(V - V_i) + V_T$$

---

2. Nous rappelons que le temps de montée d'une impulsion croît approximativement comme  $\Delta_T |\log \Delta_T|$



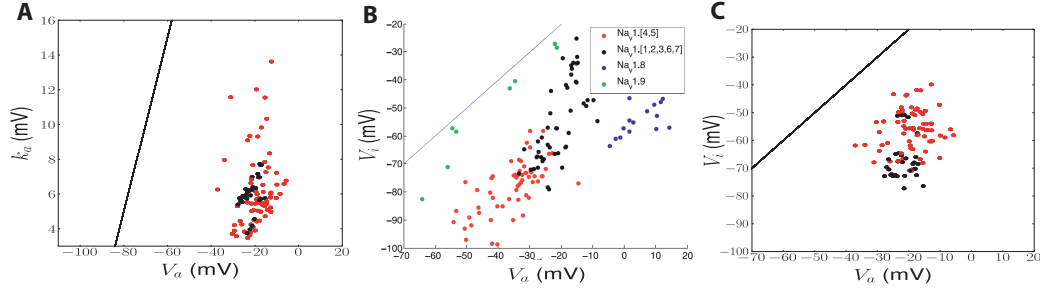


FIGURE 5.7 – Contraintes sur les caractéristiques des canaux Nav. A. Mesures des paramètres des courbes d’activation à partir des enregistrements provenant du laboratoire d’Alan Goldin. Code couleur similaire à celui de la Figure 3.8 : canaux des neurones centraux en rouge, canaux des cellules musculaires en noir. La ligne représente la condition d’excitabilité établie par Angelino and Brenner (2007) ( $V_a = E_L + 2k_a$ ). Nous pouvons constater que les mesures pour ces paramètres vérifient bien cette condition. B. Corrélation entre  $V_a$  et  $V_i$  mise en évidence par Angelino and Brenner (2007) pour le jeu données collectées dans leur étude. Les auteurs précisent que pour les canaux des neurones centraux (Nav1.[1,2,3,6]) et les canaux des cellules musculaires (Nav1.[4,5]), on peut ajuster l’ensemble des valeurs par la droite  $y = x - 40$ . La ligne continue représente la première diagonale. (Extrait de Angelino and Brenner, 2007) C. Même représentation qu’au B pour nos mesures directes (n’incluant que les canaux Nav1.[1,2,4,5,6]). Il n’apparaît pas de corrélation entre les données, néanmoins l’ensemble des valeurs est confinée dans un espace plus restreint que pour l’encart B.

et intervient donc dans la relation seuil - pente. Par ailleurs, Angelino and Brenner (2007) ont montré que ce paramètre intervient aussi dans la condition d’unicité d’un potentiel de repos. A partir de l’hypothèse qu’il ne doit exister qu’une seule valeur du potentiel de repos, ils en déduisent une condition sur  $V_i$ . L’analyse est similaire à celle faite pour la condition sur  $V_a$ . De façon intéressante, ils ont observé que  $V_a$  et  $V_i$  sont fortement corrélés  $V_a = V_i + 40\text{mV}$ . Néanmoins, nous n’avons pas observé de corrélation entre ces deux paramètres dans les mesures que nous avons effectué (voir Fig. 5.7).

- Le facteur de pente de la courbe d’inactivation  $k_i$  intervient essentiellement dans la dynamique du seuil. Nous avons montré que sa valeur relative par rapport à  $k_a$  donne une variabilité du seuil plus ou moins grande. Plus précisément, si en plus de la condition sur  $V_i$ , la condition :

$$k_i < k_a$$

est vérifiée, la variabilité du seuil peut être arbitrairement grande. De façon intéressante, nos mesures relatives aux canaux Nav1.6 donnent des valeurs de  $k_a$  et  $k_i$  vérifiant bien cette condition. Cela confirme les hypothèses précédemment émises, par rapport à  $V_i$ .

Nous avons vu aussi que  $k_i$  intervient dans l’expression du seuil à l’équilibre et dans la relation seuil-pente. Néanmoins, comme pour  $k_a$ , il s’avère que sa plage de variation n’est pas grande : écart-type de 1.5 mV dans le jeu de données

correspondant aux neurones centraux et de 2 mV pour nos mesures directes. Surout, il s'avère dans ce premier jeu de données que dans l'ensemble  $k_i \approx k_a$  (voir Fig. 3D de notre seconde étude), suggérant une forte corrélation entre ces deux paramètres.

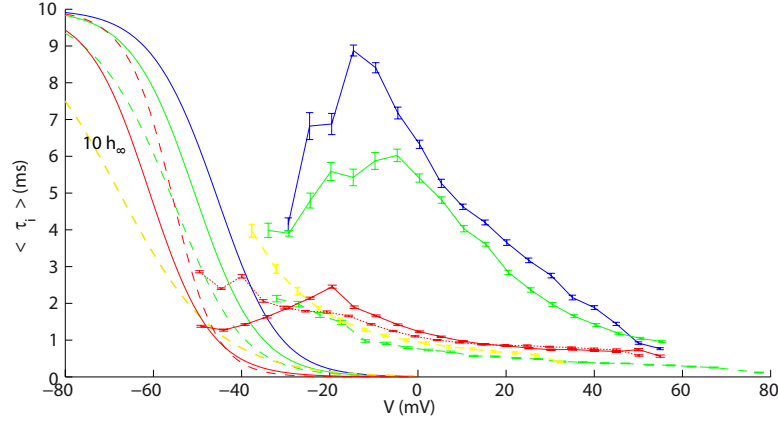


FIGURE 5.8 – Valeurs moyennes des constantes de temps d'inactivation rapide pour les canaux Nav1. Mesures effectuées selon le protocole décrit pour la Figure précédente. Code couleur identique à celui de la Figure 3 de la première étude. Les canaux étudiés sont : Nav1.1 (bleu), deux isoformes de Nav1.2 (vert), Nav1.5 (ligne jaune en pointillé), deux isoformes de Nav1.6 (rouge, lignes continues et en pointillé). Pour chaque canal, une dizaine d'enregistrements ont été analysés. Ensuite, pour chaque valeur du voltage, les constantes de temps associées à un même canal ont été moyennées. Une procédure similaire a été utilisée pour la représentation des courbes d'inactivation.

- Enfin, dans notre seconde étude, nous avons abordé le rôle de la constante de temps de l'inactivation rapide  $\tau_h$ . Nous avons vu que sa valeur au seuil était importante pour la détermination de la relation seuil - pente et plus précisément pour la forme des PSP effectifs (voir Figs. 5 et 8 de la seconde étude). Plus généralement, nous avons vu qu'elle intervenait dans la dynamique du seuil, la constante de temps du seuil  $\tau_\theta$  s'identifiant à  $\tau_h$ .

Dans l'hypothèse où l'on considère que la courbe d'inactivation est bien décrite par une fonction de Boltzmann et que la cinétique de l'inactivation est décrite par une transition élémentaire, il peut être aisément montré que la dépendance au voltage de  $\tau_h$  pourra alors être décrite simplement par la fonction :

$$\tau_h(V) = \frac{\tau^*}{\cosh\left(\frac{V-V_i}{k_i}\right)}$$

où  $\tau^*$  est la valeur maximale de  $\tau_h$ . Nous pouvons faire remarquer qu'une telle expression a été utilisée par une étude récente portant sur le type d'excitabilité (Prescott et al., 2008). Ainsi, seuls trois paramètres suffiraient pour bien décrire cette constante de temps, dont  $V_i$  et  $k_i$ . Dans ce cas, les caractéristiques de l'inactivation seraient en fait décrites uniquement par

trois paramètres au total. Néanmoins, nos mesures des constantes de temps ne sont pas ajustables par une fonction de ce type. Cela peut être expliqué par le fait que nos mesures ne sont pas standards. Nous avons en effet mesuré les constantes de temps à partir du protocole d'activation (voir Fig.5.4), les protocoles spécifiques aux mesures de  $\tau_h$  ne nous étant pas disponibles pour l'ensemble des canaux Nav étudiés. Par ailleurs, nous avons observé que cette valeur varie d'un type de canal Nav à l'autre et vaut au maximum 10 ms. Il est envisageable de penser qu'elle intervient dans le type d'excitabilité de la cellule (cf. 2.1) ou dans la détermination de la vitesse de propagation (cf. 1.2).

Il ressort ainsi de nos études que quatre paramètres pourraient suffire à décrire les caractéristiques du courant Na à l'équilibre et qu'un seul paramètre suffirait pour les caractéristiques dynamiques. De plus, il semble que seuls  $V_a$  et  $V_i$  interviennent dans la détermination du seuil. Il est fort possible que  $k_a$  et  $k_i$  soit des constantes approximativement égales. Il reste alors à comprendre l'origine de leur variabilité. De plus, il semble que  $V_a$  et  $V_i$  ne modulent pas réellement la valeur et les variations du seuil, mais autorisent simplement l'existence, la variabilité et la dynamique du seuil. Nous avons mentionné que le ratio  $\bar{g}_{Na}/g_L$  est à priori beaucoup plus important pour la détermination du niveau du seuil et que  $\tau_i$  est important pour la détermination de la vitesse de variation du seuil.

# Perspectives

---

Nous avons résumé au chapitre précédent les principaux résultats de nos études. Nous avons essayé de discuter de la plausibilité des hypothèses que nous avons avancées, nous avons évalué dans quelle mesure nos études ont répondu aux questions posées et nous avons donné les implications possibles de nos résultats en neurophysiologie et en biophysique de l'excitabilité. Néanmoins, cette discussion a été faite dans le cadre de la théorie de l'excitabilité membranaire de Hodgkin et Huxley. Il serait maintenant intéressant de sortir de ce cadre, en essayant de proposer des expériences à réaliser.

## Caractérisation de la dynamique du seuil *in vitro*

Dans notre première étude, nous avons validé notre formule pour le seuil dans un modèle détaillé de neurone cortical. Dans le deuxième chapitre, nous avons présenté quelques modèles classiques de ce type et nous avons vu qu'ils sont parfois nécessaires pour rendre compte de certains phénomènes électrophysiologiques (cf. 2.1). Néanmoins, il est nécessaire de valider notre formule pour des neurones réels. Cependant, la validation de notre formule dans ces conditions peut s'avérer difficile, étant donné que nous n'aurons pas accès directement aux dynamiques des variables ioniques.

Pour cela, nous allons proposer un protocole permettant de caractériser la dynamique du seuil *in vitro*, indépendamment de notre formule. Nous mentionnerons, lorsque cela est possible, comment notre formule peut être testée. De façon générale, pour déterminer la dynamique du seuil, plusieurs angles d'attaque doivent être adoptés :

1. Dans un premier temps, il peut être intéressant de caractériser le seuil à l'équilibre, que nous avons noté  $\theta_\infty(V)$ . Le protocole à mettre en place est très similaire à celui utilisé pour caractériser l'inactivation à l'équilibre. En utilisant la technique du voltage imposé, on peut stimuler le neurone par des créneaux de voltage de différentes amplitudes, suivis d'une impulsion de courant dont l'amplitude est contrôlée. Le créneau de voltage permet de maintenir le potentiel à une valeur  $V$ . L'impulsion permet de déterminer le seuil de voltage  $\theta_\infty(V)$ . Pour mieux comprendre ce protocole, on peut se reporter à la Figure 1A de la seconde étude.
2. Une autre méthode pour caractériser  $\theta_\infty(V)$  est d'augmenter très lentement  $V$  et d'injecter ensuite à différents instants des impulsions de courant dont l'amplitude est contrôlée.

3. Dans un second temps, il peut être intéressant de caractériser la constante de temps du seuil, que nous avons noté  $\tau_\theta(V)$ . Pour cela des protocoles similaires à ceux décrits précédemment peuvent être utilisés. Si on reprend le protocole en 1, juste après l'établissement du créneau de voltage, une impulsion de courant dont l'amplitude est contrôlée doit être injectée à différents instants. Le but de cette manipulation est de mesurer précisément le seuil à différents instants, le seuil évoluant entre une valeur  $\theta_\infty(V_0)$  ( $V_0$  étant le potentiel initial) et une valeur  $\theta_\infty(V)$ . On mesure donc le seuil à différents instants avant qu'il n'atteigne sa valeur à l'équilibre. La constante de temps  $\tau_\theta$  peut être ensuite déterminée classiquement en mesurant la pente à l'origine (établissement du créneau) du décours temporel du seuil mesuré.
4. Dans la mesure où la dynamique de  $\theta$  est décrite par une équation différentielle du premier ordre ( $\tau_\theta \dot{\theta} = \theta_\infty - \theta$ ), comme dans la seconde étude, les caractérisations précédentes suffisent pour prédire exactement la dynamique du seuil. Du point de vue biophysique, nous avons vu dans la première étude qu'une telle équation pouvait être dérivée à partir de la contribution de l'inactivation ou à partir de celle du courant potassium. Néanmoins, dans les situations où ces deux facteurs contribuent au seuil par exemple, il n'est pas clair que l'équation du seuil puisse se ramener à une équation aussi simple. De plus, nous avons vu que d'autres facteurs biophysiques interviennent dans la détermination du seuil et ne donnent généralement pas une équation de cette forme. Il est donc, dans le cas plus général, nécessaire de caractériser la dynamique du seuil directement, comme cela a d'ailleurs été réalisé par Reyes and Fetz (1993a,b) (voir Fig. 6.1).

Nous allons proposer un protocole relativement différent de celui que ces auteurs avaient réalisé, en intégrant les nouvelles techniques d'enregistrement intracellulaire développées cette dernière décennie. Nous proposons en effet d'injecter au lieu d'un courant dynamique, des conductances dynamiques. Dans le cas où la dynamique des conductances est réglée de telle sorte qu'il n'y ait pas de décharge, le principe est alors similaire à celui utilisé pour la Figure 6 de notre première étude : en superposition à la dynamique des conductances, sont injectées à différents instants des impulsions de courant dont les amplitudes sont contrôlées. Nous pouvons générer la dynamique des conductances d'entrée à partir d'un processus d'Ornstein-Uhlenbeck comme nous l'avons fait, mais d'autres dynamiques peuvent s'avérer pertinentes. Il peut être aussi intéressant d'annuler la conductance excitatrice ou inhibitrice, ce qui peut permettre d'estimer les paramètres du seuil modulant (en l'absence de contributions ioniques  $\theta - V_T = k_a \log \left( 1 + \frac{g_e + g_i}{g_L} \right)$ ). Il serait alors intéressant de comparer l'estimation obtenue pour  $k_a$  avec sa valeur mesurée par les méthodes classiques en "patch-clamp". Par ailleurs, si on cherche à valider notre formule, il serait alors plus judicieux d'utiliser des dynamiques lentes pour les conductances d'entrée, étant donné l'approximation faite sur les constantes de temps.

Dans le cas où la dynamique des conductances est telle que la cellule décharge,

il peut être alors intéressant d'utiliser les techniques d'optimisation développées dans le cadre de la compétition pour la prédiction des instants de décharge (Kobayashi and Shinomoto, 2007; Jolivet et al., 2008a; Rossant et al., 2010).

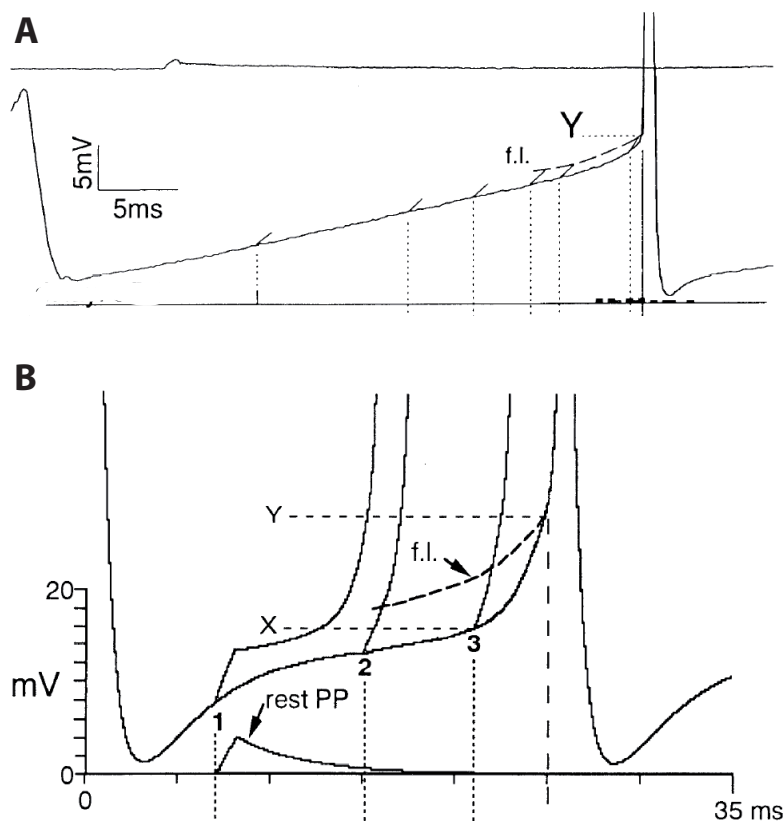


FIGURE 6.1 – Méthode de mesure de la dynamique du seuil. Ces courbes proviennent d'enregistrements intracellulaires *in vitro* dans des neurones néocorticaux. A. (En haut) Potentiel impulsionnel de 1 mV d'amplitude enregistré dans un neurone au repos. (En bas) Trace du potentiel contrôle superposée à la phase de montée des potentiels impulsionnels suivant des injections de courant à différents instants. Y représente le seuil sans injection de courant impulsionnel. f.I représente la trajectoire du seuil instantané, mesuré grâce à l'injection de courant impulsionnel. B. Courbes obtenues dans un modèle biophysique de motoneurone. Le protocole utilisé est similaire à celui décrit en A. (Extrait de Reyes and Fetz (1993b))

5. Une autre caractérisation possible de  $\theta(t)$  peut être faite en faisant varier la densité de canaux Nav au site d'initiation. Ces expériences sont généralement réalisées en utilisant un anesthésiant (souvent le TTX). La modulation de cette densité fait varier le paramètre  $\bar{g}_{Na}$ . En faisant varier ce paramètre, nous pouvons mesurer pour chaque valeur de  $\bar{g}_{Na}$  (estimable à partir des courbes I - V), le voltage au seuil de courant  $V_T$ . Cela permet alors de tester si ce dernier paramètre évolue bien en  $-\log \bar{g}_{Na}/g_L$ .  
Par ailleurs, nous pouvons injecter de façon répétée un même courant fluctuant

conduisant à une bonne reproductibilité des instants de décharge, avec et sans TTX. La comparaison, entre les deux expériences, des valeurs du voltage permet d'estimer la contribution de l'inactivation au seuil. Plus précisément, il est judicieux de mesurer dans la condition "naturelle" les instants de décharge puis de mesurer  $V$  à ces instants pour les deux conditions. En effet, dans la condition "naturelle", le voltage aux instants de décharge est donné par la formule du seuil :  $\theta \approx V_T - k_a \log h$  (en ne tenant pas compte des autres contributions ioniques). Dans la condition avec TTX, le voltage "aux instants de décharge" est donné par l'équation membranaire sans le terme du courant Na. De plus, cela suppose que le courant Na n'intervient qu'au voisinage du seuil.

6. Pour distinguer l'effet de l'inactivation de celui des conductances ioniques voltage-dépendantes, nous pouvons utiliser soit la courbe  $I - V$ , dans la zone où les canaux Nav sont fermés, soit la mesure de la constante de temps effective, comme proposé dans la discussion de la seconde étude.
7. Il existe encore de nombreux protocoles possibles pour estimer la contribution de chaque mécanisme biophysique à la dynamique du seuil. Néanmoins, ayant étudié spécifiquement dans la seconde étude la relation seuil - pente de dépolarisation, il pourrait être intéressant de la caractériser précisément. Nous avons en effet donné dans la discussion de cette étude, les influences possibles de différents mécanismes sur cette relation. Pour la caractériser, nous pouvons utiliser le protocole proposé dans la Figure 5 de la seconde étude. De plus, il pourrait être judicieux de faire varier le niveau moyen de  $V$  et d'estimer si le facteur de corrélation dans la relation seuil - pente dépend de  $V$ . Le résultat de cette expérience au regard des résultats de l'étude permettrait d'estimer le mécanisme prédominant dans la détermination du seuil.

Les protocoles que nous venons de décrire donnent des méthodes possibles pour caractériser la dynamique du seuil. Il existe probablement un grand nombre d'autres méthodes pour la caractériser. Nous avons proposé aussi quelques méthodes pour tester notre formule du seuil. Cette formule peut s'avérer utile dans les expériences sur la plasticité de l'excitabilité intrinsèque. Dans ces expériences, la mesure du seuil est souvent utilisée pour estimer les modifications structurelles de la cellule. Néanmoins, cette formule ne peut être pertinente que pour relier la mesure des variables ioniques à celle du seuil. Comme nous l'avons proposé dans certains protocoles précédents, il serait intéressant de déterminer une équation de la dynamique du seuil, sans référence à notre formule. D'une part, cela pourrait permettre d'établir un modèle intègre-et-tire en confrontation avec les données expérimentales. D'autre part, cela pourrait peut-être permettre de mettre en évidence des contraintes sur la dynamique du seuil, imposée par exemple par l'activité du réseau dans lequel la cellule est impliquée.

## Caractérisation de la dynamique du seuil *in vivo*

Il est peut-être plus facile expérimentalement de mesurer le seuil *in vivo* que de réaliser les protocoles décrits précédemment. Néanmoins, du point de vue mathématique, le problème de la caractérisation de la dynamique du seuil devient alors beaucoup plus difficile. Cela revient en effet à inférer la trajectoire du seuil instantané à partir d'un échantillon de mesures assez restreint.

A partir de la trace de  $V$  enregistrée *in vivo*, les données auxquelles nous avons accès sont : la dynamique et la distribution du seuil empirique, la dynamique et la distribution de  $V$ , la fréquence de décharge instantanée et la distribution des ISI. Plus précisément, nous pouvons mesurer à partir de ces données : la relation seuil - pente, la relation seuil - potentiel moyen, la relation seuil - ISI. Toutes ces données peuvent être utilisées pour caractériser la dynamique du seuil. Une fois ces caractéristiques établies, il est possible de proposer une équation différentielle pour la dynamique du seuil. Il peut alors être intéressant d'utiliser des méthodes permettant la caractérisation de la statistique de la réponse neuronale à partir d'un modèle intègre-et-tire, comme l'approche Fokker-Planck (Fourcaud-Trocme and Brunel, 2005; Burkitt, 2006a,b). Un aller-retour sera alors nécessaire entre optimisation des paramètres ou révision des hypothèses du modèle et qualité de la prédiction du modèle. L'approche Fokker-Planck peut permettre aussi de caractériser la dynamique de l'entrée à partir de la réponse neuronale (Richardson and Gerstner, 2005; Rudolph and Destexhe, 2006). Si la trajectoire de l'entrée est correctement prédite, nous pouvons nous ramener aux méthodes exposées dans le paragraphe précédent.

## Un potentiel d'action synthétique ?

Nous avons vu, à partir de l'étude de Angelino and Brenner (2007) et de notre travail en cours, en collaboration avec Michael Brenner et Alan Goldin, qu'il est possible d'exprimer artificiellement un type de canal Nav donné à la membrane d'ovocyte de *Xenopus*. Par ailleurs, en biologie des systèmes modèles, des techniques ont été développées pour étudier dans un système artificiel un aspect précis d'un mécanisme biologique. Au vu des techniques actuelles, il est envisageable d'entreprendre la conception d'un système artificiel excitable. Ce système pourrait être constitué à partir de cellules vivantes ou de membranes artificielles mimant certaines propriétés de la membrane cellulaire. Il s'agirait alors d'exprimer ou d'introduire à la fois un type de canal Nav et un type de canal Kv (responsable du courant K rapide). Il serait en complément nécessaire de réaliser un mécanisme artificiel de pompage ionique, similaire à celui présent dans les cellules excitables, afin d'établir le gradient ionique adéquat à la génération de PA. Le comportement électrophysiologique de la membrane pourrait alors être étudié en "patch-clamp". L'intérêt d'une telle expérience provient essentiellement de la manipulation précise des caractéristiques intrinsèques aux cellules excitables comme la densité de canaux ioniques



exprimés ou les caractéristiques cinétiques de ces canaux, notamment les relations entre caractéristiques des canaux Nav et Kv. Ces dernières manipulations pourraient s'avérer très délicates et pourrait être réalisées soit en exprimant un canal donné, dont les caractéristiques sont connues au préalable, soit en modifiant directement les caractéristiques des canaux exprimés, en utilisant des enzymes spécifiques par exemple. Le premier objectif d'une telle expérience consisterait simplement à générer un PA. A notre connaissance, une telle expérience avait été réalisée uniquement par Hsu et al. (1993) en exprimant dans des cellules de l'ovaire du hamster, d'une part les canaux Nav1.2 seuls et d'autre part ces canaux Nav et les canaux Kv Shaker transitoire H4. Dans ce dernier cas, des potentiels d'action ont été observés pour des ratios de densité de canaux appropriés. Pour justifier notre suggestion, nous pouvons aussi mentionner qu'une équipe de l'Institut Curie a déjà entrepris une expérience similaire en exprimant les canaux KvAP bactériens dans des nanotubes lipidiques (Bassereau, 2010).

Dans le cadre de notre étude, si une telle expérience était réalisable, cela permettrait de tester précisément les prédictions de Angelino and Brenner (2007) sur les conditions d'excitabilité et nos prédictions sur le lien entre seuil et caractéristiques des canaux Nav. De plus, cela permettrait d'envisager de nouvelles questions : Existe-t'il des contraintes sur les caractéristiques des canaux Nav imposées par la structure cellulaire et/ou par les autres canaux ioniques présents ? Plus précisément, existe-t'il des contraintes sur les caractéristiques de l'inactivation imposées par le métabolisme cellulaire et/ou par les caractéristiques de l'activation ou du canal Kv ? Ces questions pourraient permettre aussi de mieux comprendre la spécificité des canaux Nav exprimés dans les neurones centraux.

# Conclusion

---

Motivés par les observations *in vivo* récentes sur l'adaptation rapide du seuil des neurones centraux, nous avons entrepris durant ce travail de thèse une étude théorique et numérique du seuil. Nous avons résumé au chapitre 2 l'ensemble de ces observations. Elles nous intéressaient en particulier pour leurs implications sur l'intégration synaptique et les fonctions des neurones centraux dans la transmission du signal. Plus généralement, elles nous intéressaient dans le cadre de la compréhension des mécanismes neuronaux de sélectivité sensorielle. Par ailleurs, la controverse entre Naundorf et al. (2006) et McCormick et al. (2007) sur le caractère artefactuel de la variabilité du seuil et la révision des hypothèses HH a orienté notre travail vers l'étude plus précise des modèles HH de neurones centraux.

Nous nous sommes alors posés les problématiques suivantes : Est-il possible d'obtenir dans les modèles HH de neurones centraux une variabilité substantielle du seuil liée aux mécanismes d'ouverture des canaux ? Est-ce que le modèle HH peut prédire les caractéristiques observées *in vivo* pour la dynamique du seuil ? Dans une première étude, nous avons abordé le problème de la variabilité du seuil. En nous concentrant sur l'initiation des PA et en posant certaines approximations portant essentiellement sur la séparation des temps caractéristiques, nous avons pu établir une équation donnant les contributions relatives de chaque mécanisme ionique dans la valeur instantanée du seuil. Pour cela, il a fallu définir au préalable la notion de seuil instantanée en présence d'entrée dynamique. Dans certaines conditions, cette équation du seuil peut se traduire en une équation différentielle de la dynamique du seuil. Cette dernière équation prédit alors la dynamique du seuil à partir de celle du voltage. Nous avons validé cette description quantitative pour deux modèles HH de neurones corticaux : l'un des modèles ne prend pas en compte les variations spatiales au sein du neurone et a été conçu pour l'étude de la dynamique des conductances synaptiques ; l'autre modèle prend en compte ces variations spatiales et a été conçu spécifiquement pour l'étude de l'initiation des PA. Il s'avère que notre formule a été plus aisément validée avec ce dernier modèle. Ainsi, cette étude a montré que les modèles HH de neurones centraux peuvent prédire un seuil variable et qu'il est possible de donner une expression mathématique relativement simple de la valeur instantanée du seuil, connaissant les dynamiques des variables du modèle HH.

Nous pouvons ajouter que cette étude a soulevé un problème relatif à la mesure des courbes d'activation. Nous avons constaté en effet que la description de cette courbe dans la zone d'initiation des PA (entre -60 et -40 mV) avait une importance décisive dans la détermination du seuil. Or, il semble que l'ajustement de ces courbes soit fait généralement sur toute la plage de mesure. Cette étude suggère aussi une certaine prudence vis-à-vis de la pertinence des modèles HH pour les neurones centraux. Même si les hypothèses fondamentales sont toujours valides et même si ces

modèles permettent de bien rendre compte des phénomènes d'excitabilité observés, leur complexité mathématique rend particulièrement difficile leur analyse théorique. Enfin, nos validations dans le modèle présentant des variations spatiales laissent à penser qu'au site des PA le seuil est variable et la montée des PA abrupte, comme observé par Naundorf et al. (2006). Néanmoins, ce dernier point reste à valider plus précisément à la fois dans les modèles HH et par des enregistrements.

Dans notre seconde étude, nous avons abordé la question de l'adaptation du seuil. En utilisant la description quantitative établie dans la première étude et en se concentrant sur la contribution de l'inactivation du courant Na, nous avons montré que les différentes caractéristiques de la dynamique du seuil *in vivo* peuvent être reproduites à partir d'un modèle biophysique de neurone central, inspiré du modèle HH. Cela peut être synthétisé en une équation différentielle linéaire du seuil  $\theta$  reliant sa dynamique à celle de  $V$  et aux caractéristiques de l'inactivation. En introduisant une dynamique simple de  $V$  et une condition de seuil abrupte (impulsion si  $V > \theta$ ), il est alors possible de définir un modèle intègre-et-tire permettant d'étudier quantitativement le rôle de l'inactivation dans l'intégration synaptique. Cela nous a permis de mettre en évidence la notion de PSP effectif : la caractérisation précise des activations post-synaptiques doit être faite à la fois à partir de la dynamique de  $V$  et de  $\theta$ , c'est-à-dire de celle de l'inactivation. La forme de ces PSP effectifs sera donc déterminée aussi par les caractéristiques de l'inactivation. De façon intéressante, cette description nous permet de considérer l'inactivation comme une synapse virtuelle, s'activant simultanément à l'activation synaptique réelle et contrebalançant le poids synaptique réel : l'inactivation agit comme une synapse inhibitrice lorsque l'activation est excitatrice et inversement. Par ailleurs, nous avons montré dans cette étude que l'inactivation est le mécanisme le plus probable d'adaptation rapide du seuil. Les données en "patch-clamp" pour les neurones centraux autorisent théoriquement une grande variabilité du seuil. La prise en compte d'une inactivation rapide permet de rendre compte des différentes caractéristiques de la dynamique du seuil observées *in vivo*. Enfin, dans tous les mécanismes envisagés, seule l'activation du courant K rapide pourrait expliquer l'ensemble de ces observations. Néanmoins, différents arguments portant sur les dynamiques de ces deux processus et sur le métabolisme des PA font pencher en faveur de l'hypothèse de l'inactivation. Il serait intéressant d'aborder cette question de façon plus précise pour bien comprendre la fonction biologique de l'inactivation.

Dans la discussion et les perspectives, nous avons suggéré quelques directions futures à ce travail. Du point de vue théorique, il est envisageable d'étudier plus précisément l'influence de la dynamique adaptative du seuil sur la transmission du signal par les neurones, à partir de modèles de type intègre-et-tire. Il peut être aussi intéressant d'étudier l'influence de cette dynamique du seuil dans le cadre des réseaux neuronaux. Enfin, la question des contraintes sur les caractéristiques des canaux Nav et sur leur distribution peut être facilitée en utilisant les prédictions que nous avons établi pour le seuil. Du point de vue expérimental, nous avons proposé au chapitre précédent des expériences permettant de valider notre travail et apporter de nouveaux éléments au problème. Nous avons proposé plusieurs expériences *in vi-*

*tro* destinées à caractériser de façon plus générale et précise la dynamique du seuil. Nous avons évoqué aussi des méthodes possibles pour la reconstruction de la dynamique du seuil à partir de traces de potentiel enregistrées *in vivo*. Enfin, nous avons évoqué la possibilité d'une expérience plus délicate consistant à générer un PA dans une cellule excitable artificielle. Cette expérience pourrait être particulièrement intéressante pour comprendre les mécanismes à l'oeuvre dans la régulation de l'excitabilité.



# Bibliographie

- Abbott, L. F. and Kepler, T. B. (1990). *Model neurons : From Hodgkin-Huxley to Hopfield*, pages 5 – 18. Springer Berlin / Heidelberg. 39
- Aldrich, R. W. (2001). Fifty years of inactivation. *Nature*, 411(6838) :643–644. 69
- Alle, H., Roth, A., and Geiger, J. R. P. (2009). Energy-efficient action potentials in hippocampal mossy fibers. *Science*, 325(5946) :1405–1408. 131
- Anderson, J. S., Carandini, M., and Ferster, D. (2000). Orientation tuning of input conductance, excitation, and inhibition in cat primary visual cortex. *J Neurophysiol*, 84(2) :909–926. 38
- Angelino, E. and Brenner, M. P. (2007). Excitability constraints on voltage-gated sodium channels. *PLoS Comput Biol*, 3(9) :1751–1760. 66, 71, 72, 127, 129, 139, 140, 147, 148
- Armstrong, C. M. and Bezanilla, F. (1977). Inactivation of the sodium channel. ii. gating current experiments. *J Gen Physiol*, 70(5) :567–590. 68
- Azouz, R. and Gray, C. M. (1999). Cellular mechanisms contributing to response variability of cortical neurons in vivo. *J Neurosci*, 19(6) :2209–2223. 44, 45, 46
- Azouz, R. and Gray, C. M. (2000). Dynamic spike threshold reveals a mechanism for synaptic coincidence detection in cortical neurons in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(14) :8110–8115. 46, 47, 48, 49, 51, 53, 135
- Azouz, R. and Gray, C. M. (2003). Adaptive coincidence detection and dynamic gain control in visual cortical neurons in vivo. *Neuron*, 37(3) :513–523. 48, 49, 50, 51, 54, 134, 135
- Azouz, R. and Gray, C. M. (2008). Stimulus-selective spiking is driven by the relative timing of synchronous excitation and disinhibition in cat striate neurons in vivo. *Eur J Neurosci*, 28(7) :1286–1300. 38
- Badel, L., Lefort, S., Brette, R., Petersen, C. C. H., Gerstner, W., and Richardson, M. J. E. (2008). Dynamic i-v curves are reliable predictors of naturalistic pyramidal-neuron voltage traces. *J Neurophysiol*, 99(2) :656–666. 41, 42, 50
- Baranauskas, G. and Martina, M. (2006). Sodium currents activate without a hodgkin-and-huxley-type delay in central mammalian neurons. *J Neurosci*, 26(2) :671–684. 21, 23, 24, 67, 125, 136
- Bassereau, P. (2010). Neurone artificiel. Technical report, Institut Curie. 148
- Bean, B. P. (2007). The action potential in mammalian central neurons. *Nat Rev Neurosci*, 8(6) :451–465. 8, 21, 22, 69, 70
- Bennett, V. and Chen, L. (2001). Ankyrins and cellular targeting of diverse membrane proteins to physiological sites. *Curr Opin Cell Biol*, 13(1) :61–67. 63
- Bezanilla, F. and Armstrong, C. M. (1977). Inactivation of the sodium channel. i. sodium current experiments. *J Gen Physiol*, 70(5) :549–566. 68

- Blair, E. A. and Erlanger, J. (1932). Responses of axons to brief shocks. *Proc. Soc. Exptl. Biol.*, 29 :926–927. 18
- Boiko, T., Wart, A. V., Caldwell, J. H., Levinson, S. R., Trimmer, J. S., and Matthews, G. (2003). Functional specialization of the axon initial segment by isoform-specific sodium channel targeting. *J Neurosci*, 23(6) :2306–2313. 58
- Brandman, R. and Nelson, M. E. (2002). A simple model of long-term spike train regularization. *Neural Comput*, 14(7) :1575–1597. 40
- Brette, R. (2003). Modèles impulsionnels de réseaux de neurones biologiques. Master’s thesis, Paris VI. 32
- Brette, R. and Guigon, E. (2003). Reliability of spike timing is a general property of spiking model neurons. *Neural Comput*, 15(2) :279–308. 32
- Brunel, N. and van Rossum, M. C. W. (2007). Lapique’s 1907 paper : from frogs to integrate-and-fire. *Biol Cybern*, 97(5-6) :337–339. 39
- Bryant, H. L. and Segundo, J. P. (1976). Spike initiation by transmembrane current : a white-noise analysis. *J Physiol*, 260(2) :279–314. 30
- Burkitt, A. N. (2006a). A review of the integrate-and-fire neuron model : I. homogeneous synaptic input. *Biol Cybern*, 95(1) :1–19. 40, 147
- Burkitt, A. N. (2006b). A review of the integrate-and-fire neuron model : II. inhomogeneous synaptic input and network properties. *Biol Cybern*, 95(2) :97–112. 147
- Caldwell, J. H., Schaller, K. L., Lasher, R. S., Peles, E., and Levinson, S. R. (2000). Sodium channel na(v)1.6 is localized at nodes of ranvier, dendrites, and synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97(10) :5616–5620. 58
- Camera, G. L., Rauch, A., Lüscher, H.-R., Senn, W., and Fusi, S. (2004). Minimal models of adapted neuronal response to in vivo-like input currents. *Neural Comput*, 16(10) :2101–2124. 40
- Carnevale, N. T. and Hines, M. L. (2009). *The NEURON Book*. Cambridge University Press. 27
- Catterall, W. A., Goldin, A. L., and Waxman, S. G. (2005). International union of pharmacology. xlvii. nomenclature and structure-function relationships of voltage-gated sodium channels. *Pharmacol Rev*, 57(4) :397–409. 58, 59, 60
- Chacron, M. J., Longtin, A., St-Hilaire, M., and Maler, L. (2000). Suprathreshold stochastic firing dynamics with memory in p-type electroreceptors. *Phys Rev Lett*, 85(7) :1576–1579. 40
- Chance, F. S., Abbott, L. F., and Reyes, A. D. (2002). Gain modulation from background synaptic input. *Neuron*, 35(4) :773–782. 53
- Chow, C. C. and White, J. A. (1996). Spontaneous action potentials due to channel fluctuations. *Biophys J*, 71(6) :3013–3021. 69, 126

- Clark, B. A., Monsivais, P., Branco, T., London, M., and Häusser, M. (2005). The site of action potential initiation in cerebellar purkinje neurons. *Nat Neurosci*, 8(2) :137–139. 27
- Clopath, C., Jolivet, R., Rauch, A., Lüscher, H.-R., and Gerstner, W. (2007). Predicting neuronal activity with simple models of the threshold type : Adaptive exponential integrate-and-fire model with two compartments. *Neurocomputing*, 70 :1668–1673. 42
- Colbert, C. M., Magee, J. C., Hoffman, D. A., and Johnston, D. (1997). Slow recovery from inactivation of na<sup>+</sup> channels underlies the activity-dependent attenuation of dendritic action potentials in hippocampal ca1 pyramidal neurons. *J Neurosci*, 17(17) :6512–6521. 22
- Colbert, C. M. and Pan, E. (2002). Ion channel properties underlying axonal action potential initiation in pyramidal neurons. *Nat Neurosci*, 5(6) :533–538. 21, 29
- Cole, K. S. (1949). Dynamica electrical characteristics of the squid giant axon membrane. *Arch. Sci. Physiol.*, 3 :253 – 258. 1
- Cole, K. S. and Curtis, H. J. (1939). Electrical impedance of the squid giant axon during activity. *J. Gen. Physiol.*, 22 :649 – 670. 11
- Cole, K. S., Guttman, R., and Bezanilla, F. (1970). Nerve membrane excitation without threshold. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 65(4) :884–891. 17
- Colwell, L. J. and Brenner, M. P. (2009). Action potential initiation in the hodgkin-huxley model. *PLoS Comput Biol*, 5(1) :e1000265. 55, 56, 70, 126
- Connors, B. W. and Gutnick, M. J. (1990). Intrinsic firing patterns of diverse neocortical neurons. *Trends Neurosci*, 13(3) :99–104. 21
- Coombes, S. (1999). Liapunov exponents and mode-locked solutions for integrate-and-fire dynamical systems. *Physics Letters A*, 255 :49–57. 42
- Coombs, J. S., CURTIS, D. R., and ECCLES, J. C. (1957). The generation of impulses in motoneurons. *J Physiol*, 139(2) :232–249. 16, 17, 27
- Crill, W. E. (1996). Persistent sodium current in mammalian central neurons. *Annu Rev Physiol*, 58 :349–362. 22
- Curtis, H. J. and Cole, K. S. (1940). Membrane action potentials from the squid giant axon. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 15 :147 – 157. 1
- Daoudal, G. and Debanne, D. (2003). Long-term plasticity of intrinsic excitability : learning rules and mechanisms. *Learn Mem*, 10(6) :456–465. 73
- Davidson, J. and Schuster, H. G. (2002). Simple model for 1/f(alpha) noise. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 65(2 Pt 2) :026120. 42
- Davis, G. W. (2006). Homeostatic control of neural activity : from phenomenology to molecular design. *Annu Rev Neurosci*, 29 :307–323. 73
- de Polavieja, G. G., Harsch, A., Kleppe, I., Robinson, H. P. C., and Juusola, M. (2005). Stimulus history reliably shapes action potential waveforms of cortical neurons. *J Neurosci*, 25(23) :5657–5665. 50, 51



- Debanne, D. (2004). Information processing in the axon. *Nat Rev Neurosci*, 5(4) :304–316. 27, 28
- Deneve, S. (2008). Bayesian spiking neurons i : inference. *Neural Comput*, 20(1) :91–117. 135
- Desai, N. S. (2003). Homeostatic plasticity in the cns : synaptic and intrinsic forms. *J Physiol Paris*, 97(4-6) :391–402. 73
- Destexhe, A. (1997). Conductance-based integrate-and-fire models. *Neural Comput*, 9(3) :503–514. 39
- Destexhe, A. and Bal, T. (2009). *Dynamic-Clamp : From Principles to Applications*. Springer. 34
- Destexhe, A., Mainen, Z. F., and Sejnowski, T. J. (1994). Synthesis of models for excitable membranes, synaptic transmission and neuromodulation using a common kinetic formalism. *J Comput Neurosci*, 1(3) :195–230. 65
- Destexhe, A., Rudolph, M., Fellous, J. M., and Sejnowski, T. J. (2001). Fluctuating synaptic conductances recreate in vivo-like activity in neocortical neurons. *Neuroscience*, 107(1) :13–24. 33, 34, 35, 133
- Destexhe, A., Rudolph, M., and Paré, D. (2003). The high-conductance state of neocortical neurons in vivo. *Nat Rev Neurosci*, 4(9) :739–751. 31
- DeWeese, M. R. and Zador, A. M. (2006). Non-gaussian membrane potential dynamics imply sparse, synchronous activity in auditory cortex. *J Neurosci*, 26(47) :12206–12218. 36, 37
- Do, M. T. H. and Bean, B. P. (2003). Subthreshold sodium currents and pacemaking of subthalamic neurons : modulation by slow inactivation. *Neuron*, 39(1) :109–120. 22
- Dodge, F. A. and Cooley, J. W. (1973). Action potential of the motoneuron. *IBM J. Res. Dev.*, 17 :219–229. 17, 27
- Dodla, R., Svirkis, G., and Rinzel, J. (2006). Well-timed, brief inhibition can promote spiking : postinhibitory facilitation. *J Neurophysiol*, 95(4) :2664–2677. 42
- Duflocq, A., Bras, B. L., Bullier, E., Couraud, F., and Davenne, M. (2008). Nav1.1 is predominantly expressed in nodes of ranvier and axon initial segments. *Mol Cell Neurosci*, 39(2) :180–192. 60
- Ellerkmann, R. K., Riazanski, V., Elger, C. E., Urban, B. W., and Beck, H. (2001). Slow recovery from inactivation regulates the availability of voltage-dependent na(+) channels in hippocampal granule cells, hilar neurons and basket cells. *J Physiol*, 532(Pt 2) :385–397. 22
- Ferragamo, M. J. and Oertel, D. (2002). Octopus cells of the mammalian ventral cochlear nucleus sense the rate of depolarization. *J Neurophysiol*, 87(5) :2262–2270. 51
- Fitzhugh, R. (1960). Thresholds and plateaus in the hodgkin-huxley nerve equations. *J Gen Physiol*, 43 :867–896. 17, 18

- Fitzhugh, R. (1966). Theoretical effect of temperature on threshold in the hodgkin-huxley nerve model. *J Gen Physiol*, 49(5) :989–1005. 17
- Fleiderovich, I. A., Friedman, A., and Gutnick, M. J. (1996). Slow inactivation of na<sup>+</sup> current and slow cumulative spike adaptation in mouse and guinea-pig neocortical neurones in slices. *J Physiol*, 493 ( Pt 1) :83–97. 22
- Fleiderovich, I. A., Lasser-Ross, N., Gutnick, M. J., and Ross, W. N. (2010). Na<sup>+</sup> imaging reveals little difference in action potential-evoked na<sup>+</sup> influx between axon and soma. *Nat Neurosci*, 13(7) :852–860. 62
- Fourcaud-Trocmé, N. (2003). *Fonction de transfert neuronale en présence de bruit*. PhD thesis, Paris VI. 129
- Fourcaud-Trocmé, N. and Brunel, N. (2005). Dynamics of the instantaneous firing rate in response to changes in input statistics. *J Comput Neurosci*, 18(3) :311–321. 43, 147
- Fourcaud-Trocmé, N., Hansel, D., van Vreeswijk, C., and Brunel, N. (2003). How spike generation mechanisms determine the neuronal response to fluctuating inputs. *J Neurosci*, 23(37) :11628–11640. 42, 43, 69, 125, 135
- Fox and Lu (1994). Emergent collective behavior in large numbers of globally coupled independently stochastic ion channels. *Phys Rev E Stat Phys Plasmas Fluids Relat Interdiscip Topics*, 49(4) :3421–3431. 69
- Fox, R. F. (1997). Stochastic versions of the hodgkin-huxley equations. *Biophys J*, 72(5) :2068–2074. 69
- Frank, K. and Fuortes, M. G. F. (1957). Presynaptic and postsynaptic inhibition of monosynaptic reflexes. *Fed. Proc.*, 16 :39 – 40. 17, 27
- Fricker, D., Verheugen, J. A., and Miles, R. (1999). Cell-attached measurements of the firing threshold of rat hippocampal neurones. *J Physiol*, 517 ( Pt 3) :791–804. 51
- Fried, S. I., Lasker, A. C. W., Desai, N. J., Eddington, D. K., and Rizzo, J. F. (2009). Axonal sodium-channel bands shape the response to electric stimulation in retinal ganglion cells. *J Neurophysiol*, 101(4) :1972–1987. 27, 62, 63
- Gabbiani, F., Metzner, W., Wessel, R., and Koch, C. (1996). From stimulus encoding to feature extraction in weakly electric fish. *Nature*, 384(6609) :564–567. 42
- Gestri, G., Mastbroek, H. A. K., and Zaagman, W. H. (1980). Stochastic constancy, variability and adaptation of spike generation : Performance of a giant neuron in the visual system of the fly. *Biological Cybernetics*, 38 :31–40. 42
- Gittelman, J. X. and Tempel, B. L. (2006). Kv1.1-containing channels are critical for temporal precision during spike initiation. *J Neurophysiol*, 96(3) :1203–1214. 51
- Glass, L., Graves, C., Petrillo, G. A., and Mackey, M. C. (1980). Unstable dynamics of a periodically driven oscillator in the presence of noise. *J Theor Biol*, 86(3) :455–475. 42
- Goldberg, E. M., Clark, B. D., Zagha, E., Nahmani, M., Erisir, A., and Rudy, B. (2008). K<sup>+</sup> channels at the axon initial segment dampen near-threshold excitability of neocortical fast-spiking gabaergic interneurons. *Neuron*, 58(3) :387–400. 51

- Goldin, A. L. (2001). Resurgence of sodium channel research. *Annu Rev Physiol*, 63 :871–894. 58, 132
- Goldin, A. L. (2002). Evolution of voltage-gated  $\text{Na}^{+}$  channels. *J Exp Biol*, 205(Pt 5) :575–584. 60
- Goldin, A. L., Barchi, R. L., Caldwell, J. H., Hofmann, F., Howe, J. R., Hunter, J. C., Kallen, R. G., Mandel, G., Meisler, M. H., Netter, Y. B., Noda, M., Tamkun, M. M., Waxman, S. G., Wood, J. N., and Catterall, W. A. (2000). Nomenclature of voltage-gated sodium channels. *Neuron*, 28(2) :365–368. 58
- Gründemann, J. and Häusser, M. (2010). Neuroscience : A plastic axonal hotspot. *Nature*, 465(7301) :1022–1023. 73, 74
- Grubb, M. S. and Burrone, J. (2010). Activity-dependent relocation of the axon initial segment fine-tunes neuronal excitability. *Nature*, 465(7301) :1070–1074. 73, 74
- Guan, D., Lee, J. C. F., Higgs, M. H., Spain, W. J., and Foehring, R. C. (2007). Functional roles of  $\text{Kv}1$  channels in neocortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol*, 97(3) :1931–1940. 51
- Gurkiewicz, M. and Korngreen, A. (2007). A numerical approach to ion channel modelling using whole-cell voltage-clamp recordings and a genetic algorithm. *PLoS Comput Biol*, 3(8) :e169. 69
- Guttman, R. (1962). Effect of temperature on the potential and current thresholds of axon membrane. *J Gen Physiol*, 46 :257–266. 17
- Guttman, R. (1966). Temperature characteristics of excitation in space-clamped squid axons. *J Gen Physiol*, 49(5) :1007–1018. 17
- Hô, N. and Destexhe, A. (2000). Synaptic background activity enhances the responsiveness of neocortical pyramidal neurons. *J Neurophysiol*, 84(3) :1488–1496. 33
- Hamill, O. P., Marty, A., Neher, E., Sakmann, B., and Sigworth, F. J. (1981). Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch*, 391(2) :85–100. 58
- Harrison, K. H., Hof, P. R., and Wang, S. S.-H. (2002). Scaling laws in the mammalian neocortex : does form provide clues to function? *J Neurocytol*, 31(3-5) :289–298. 13
- He, Y., Zorumski, C. F., and Mennerick, S. (2002). Contribution of presynaptic  $\text{Na}^{+}$  channel inactivation to paired-pulse synaptic depression in cultured hippocampal neurons. *J Neurophysiol*, 87(2) :925–936. 67
- Henze, D. A. and Buzsáki, G. (2001). Action potential threshold of hippocampal pyramidal cells in vivo is increased by recent spiking activity. *Neuroscience*, 105(1) :121–130. 44, 45, 46, 47, 49, 50, 51
- Herz, A. V. M., Gollisch, T., Machens, C. K., and Jaeger, D. (2006). Modeling single-neuron dynamics and computations : a balance of detail and abstraction. *Science*, 314(5796) :80–85. 39

- Hill, A. S., Nishino, A., Nakajo, K., Zhang, G., Fineman, J. R., Selzer, M. E., Okamura, Y., and Cooper, E. C. (2008). Ion channel clustering at the axon initial segment and node of ranvier evolved sequentially in early chordates. *PLoS Genet*, 4(12) :e1000317. 60, 61, 63, 135
- Hille, B. (1970). Ionic channels in nerve membranes. *Prog Biophys Mol Biol*, 21 :1–32. 7, 10
- Hille, B. (2001). *Ion channels of excitable membranes*. Sinauer Associates. 2, 3, 5, 57, 58, 65, 68, 69
- Hodgkin, A. L. (1948). The local electric changes associated with repetitive action in a non-medullated axon. *J Physiol*, 107(2) :165–181. 24
- Hodgkin, A. L. (1963). The ionic basis of nervous conduction. In *Noble lecture*. 6
- Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F. (1939). Action potential recorded from inside a nerve fibre. *J. Physiol. (London)*, 144 :710 – 711. 1
- Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J Physiol*, 117(4) :500–544. 8, 11, 16, 17
- Hodgkin, A. L., Huxley, A. F., and Katz, B. (1949). Ionic currents underlying activity in the giant axon of the squid. *Arch. Sci. Physiol.*, 3 :129 – 150. 1
- Hodgkin, A. L., Huxley, A. F., and Katz, B. (1952). Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of loligo. *J Physiol*, 116(4) :424–448. 1
- Hodgkin, A. L. and Rushton, W. A. H. (1946). The electrical constants of a crustacean nerve fibre. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 133 :444–479. 15, 16
- Hoshi, T., Zagotta, W. N., and Aldrich, R. W. (1990). Biophysical and molecular mechanisms of shaker potassium channel inactivation. *Science*, 250(4980) :533–538. 68
- Hossain, W. A., Antic, S. D., Yang, Y., Rasband, M. N., and Morest, D. K. (2005). Where is the spike generator of the cochlear nerve? voltage-gated sodium channels in the mouse cochlea. *J Neurosci*, 25(29) :6857–6868. 27
- Hsu, H., Huang, E., Yang, X. C., Karschin, A., Labarca, C., Figl, A., Ho, B., Davidson, N., and Lester, H. A. (1993). Slow and incomplete inactivations of voltage-gated channels dominate encoding in synthetic neurons. *Biophys J*, 65(3) :1196–1206. 148
- Hu, W., Tian, C., Li, T., Yang, M., Hou, H., and Shu, Y. (2009). Distinct contributions of na(v)1.6 and na(v)1.2 in action potential initiation and backpropagation. *Nat Neurosci*, 12(8) :996–1002. 21, 29, 45, 50, 51, 60, 61, 70, 71, 126, 129, 133
- Huguenard, J. R., Hamill, O. P., and Prince, D. A. (1988). Developmental changes in na<sup>+</sup> conductances in rat neocortical neurons : appearance of a slowly inactivating component. *J Neurophysiol*, 59(3) :778–795. 21, 67
- Huxley, A. (2002). From overshoot to voltage clamp. *Trends Neurosci*, 25(11) :553–558. 6

- Huxley, A. F. (1959). Ion movements during nerve activity. *Ann N Y Acad Sci*, 81 :221–246. 12
- Inda, M. C., DeFelipe, J., and Muñoz, A. (2006). Voltage-gated ion channels in the axon initial segment of human cortical pyramidal cells and their relationship with chandelier cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(8) :2920–2925. 61
- Izhikevich, E. M. (2007). *Dynamical Systems in Neuroscience : The Geometry of Excitability and Bursting*. MIT Press. 21, 25, 42
- Jack, J. J. B., Noble, D., and Tsien, R. W. (1975). *Electric current flow in excitable cells*. Clarendon Press. 18, 40
- Johnston, D. (2010). The na<sup>+</sup> channel conundrum : axon structure versus function. *Nat Neurosci*, 13(7) :784–785. 62
- Johnston, D. and Wu, S. M.-S. (1995). *Foundations of cellular neurophysiology*. 12, 21, 127
- Jolivet, R., Kobayashi, R., Rauch, A., Naud, R., Shinomoto, S., and Gerstner, W. (2008a). A benchmark test for a quantitative assessment of simple neuron models. *J Neurosci Methods*, 169(2) :417–424. 39, 42, 145
- Jolivet, R., Rauch, A., Lüscher, H.-R., and Gerstner, W. (2006). Predicting spike timing of neocortical pyramidal neurons by simple threshold models. *J Comput Neurosci*, 21(1) :35–49. 39, 40
- Jolivet, R., Schürmann, F., Berger, T. K., Naud, R., Gerstner, W., and Roth, A. (2008b). The quantitative single-neuron modeling competition. *Biol Cybern*, 99(4-5) :417–426. 39, 42, 123, 124
- Jung, H. Y., Mickus, T., and Spruston, N. (1997). Prolonged sodium channel inactivation contributes to dendritic action potential attenuation in hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci*, 17(17) :6639–6646. 22
- Kandel, E., Schwartz, J., and Jessell, T. (2000). *Principles of Neural Science*. McGraw-Hill Medical ; 4 edition. 8, 60
- Keating, M. T. and Sanguinetti, M. C. (2001). Molecular and cellular mechanisms of cardiac arrhythmias. *Cell*, 104(4) :569–580. 136
- Keener, J. P., Hoppensteadt, F. C., and Rinzel, J. (1981). Integrate-and-fire models of nerve membrane response to oscillatory input. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 41 :503–517. 42
- Khaliq, Z. M. and Raman, I. M. (2006). Relative contributions of axonal and somatic na channels to action potential initiation in cerebellar purkinje neurons. *J Neurosci*, 26(7) :1935–1944. 45, 61
- Kim, K. J. and Rieke, F. (2003). Slow na<sup>+</sup> inactivation and variance adaptation in salamander retinal ganglion cells. *J Neurosci*, 23(4) :1506–1516. 22
- Kistler, W. M., Gerstner, W., and van Hemmen, J. L. (1997). Reduction of the hodgkin-huxley equations to a single-variable threshold model. *Neural Computation*, 9 :1015–1045. 39

- König, P., Engel, A. K., and Singer, W. (1996). Integrator or coincidence detector? the role of the cortical neuron revisited. *Trends Neurosci*, 19(4) :130–137. 30
- Knight, B. W. (1972). Dynamics of encoding in a population of neurons. *J Gen Physiol*, 59(6) :734–766. 42
- Kobayashi, R. and Shinomoto, S. (2007). State space method for predicting the spike times of a neuron. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 75(1 Pt 1) :011925. 145
- Koch, C. (1999). *Biophysics of Computation : Information Processing in Single Neurons*. Oxford University Press. 12, 18, 66, 67, 130
- Koch, C., Bernander, O., and Douglas, R. J. (1995). Do neurons have a voltage or a current threshold for action potential initiation? *J Comput Neurosci*, 2(1) :63–82. 15, 19, 20, 28
- Kole, M. H. P., Ilshner, S. U., Kampa, B. M., Williams, S. R., Ruben, P. C., and Stuart, G. J. (2008). Action potential generation requires a high sodium channel density in the axon initial segment. *Nat Neurosci*, 11(2) :178–186. 21, 29, 61, 126
- Kole, M. H. P., Letzkus, J. J., and Stuart, G. J. (2007). Axon initial segment kv1 channels control axonal action potential waveform and synaptic efficacy. *Neuron*, 55(4) :633–647. 127
- Kole, M. H. P. and Stuart, G. J. (2008). Is action potential threshold lowest in the axon? *Nat Neurosci*, 11(11) :1253–1255. 14, 45
- Kress, G. J. and Mennerick, S. (2009). Action potential initiation and propagation : upstream influences on neurotransmission. *Neuroscience*, 158(1) :211–222. 27, 60
- Kuba, H., Ishii, T. M., and Ohmori, H. (2006). Axonal site of spike initiation enhances auditory coincidence detection. *Nature*, 444(7122) :1069–1072. 62, 63
- Kuba, H. and Ohmori, H. (2009). Roles of axonal sodium channels in precise auditory time coding at nucleus magnocellularis of the chick. *J Physiol*, 587(Pt 1) :87–100. 21, 51, 67
- Kuba, H., Oichi, Y., and Ohmori, H. (2010). Presynaptic activity regulates na(+) channel distribution at the axon initial segment. *Nature*, 465(7301) :1075–1078. 73, 74
- Lapicque, L. (1907). Recherches quantitatives sur l’excitation électrique des nerfs traitée comme une polarisation. *J. Physiol. (Paris)*, 9 :620–635. 16, 39
- Lecar, H. and Nossal, R. (1971a). Theory of threshold fluctuations in nerves. i. relationships between electrical noise and fluctuations in axon firing. *Biophys J*, 11(12) :1048–1067. 18
- Lecar, H. and Nossal, R. (1971b). Theory of threshold fluctuations in nerves. ii. analysis of various sources of membrane noise. *Biophys J*, 11(12) :1068–1084. 18
- Leão, R. M., Kushmerick, C., Pinaud, R., Renden, R., Li, G.-L., Taschenberger, H., Spirou, G., Levinson, S. R., and von Gersdorff, H. (2005). Presynaptic na+ channels : locus, development, and recovery from inactivation at a high-fidelity synapse. *J Neurosci*, 25(14) :3724–3738. 67

- Léger, J.-F., Stern, E. A., Aertsen, A., and Heck, D. (2005). Synaptic integration in rat frontal cortex shaped by network activity. *J Neurophysiol*, 93(1) :281–293. 36, 37, 45, 126
- Lindner, B., Chacron, M. J., and Longtin, A. (2005). Integrate-and-fire neurons with threshold noise : a tractable model of how interspike interval correlations affect neuronal signal transmission. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 72(2 Pt 1) :021911. 42
- Liu, Y. H. and Wang, X. J. (2001). Spike-frequency adaptation of a generalized leaky integrate-and-fire model neuron. *J Comput Neurosci*, 10(1) :25–45. 40
- Llinás, R. R. (1988). The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons : insights into central nervous system function. *Science*, 242(4886) :1654–1664. 21
- Lopreato, G. F., Lu, Y., Southwell, A., Atkinson, N. S., Hillis, D. M., Wilcox, T. P., and Zakon, H. H. (2001). Evolution and divergence of sodium channel genes in vertebrates. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 98(13) :7588–7592. 60
- Lorincz, A. and Nusser, Z. (2008). Cell-type-dependent molecular composition of the axon initial segment. *J Neurosci*, 28(53) :14329–14340. 60
- Lu, B., Su, Y., Das, S., Liu, J., Xia, J., and Ren, D. (2007). The neuronal channel *nalcn* contributes resting sodium permeability and is required for normal respiratory rhythm. *Cell*, 129 :371–383. 22
- Lucas, K. (1909). The "all or none" contraction of the amphibian skeletal muscle fibre. *J Physiol*, 38(2-3) :113–133. 1
- Magistretti, J. and Alonso, A. (1999). Biophysical properties and slow voltage-dependent inactivation of a sustained sodium current in entorhinal cortex layer-ii principal neurons : a whole-cell and single-channel study. *The Journal of General Physiology*, 114 :491–509. 22
- Mainen, Z. F., Joerges, J., Huguenard, J. R., and Sejnowski, T. J. (1995). A model of spike initiation in neocortical pyramidal neurons. *Neuron*, 15(6) :1427–1439. 10, 24, 27, 28, 29, 30, 64, 125
- Mainen, Z. F. and Sejnowski, T. J. (1995). Reliability of spike timing in neocortical neurons. *Science*, 268(5216) :1503–1506. 30, 31
- Marban, E., Yamagishi, T., and Tomaselli, G. F. (1998). Structure and function of voltage-gated sodium channels. *J Physiol*, 508 ( Pt 3) :647–657. 57
- Marder, E. and Goaillard, J.-M. (2006). Variability, compensation and homeostasis in neuron and network function. *Nat Rev Neurosci*, 7(7) :563–574. 73
- Marmont, G. (1949). Studies on the axon membrane; a new method. *J Cell Physiol*, 34(3) :351–382. 1
- Martina, M. and Jonas, P. (1997). Functional differences in  $Na^+$  channel gating between fast-spiking interneurons and principal neurons of rat hippocampus. *J Physiol*, 505 ( Pt 3) :593–603. 21, 39, 67

- Maurice, N., Mercer, J., Chan, C. S., Hernandez-Lopez, S., Held, J., Tkatch, T., and Surmeier, D. J. (2004). D2 dopamine receptor-mediated modulation of voltage-dependent  $\text{Na}^+$  channels reduces autonomous activity in striatal cholinergic interneurons. *J Neurosci*, 24(46) :10289–10301. 22
- McCormick, D. A. (2004). *Membrane Properties and Neurotransmitter Actions*, chapter Chapter 2, pages 39 – 77. Oxford University Press, USA. 21
- McCormick, D. A., Shu, Y., and Yu, Y. (2007). Neurophysiology : Hodgkin and huxley model—still standing? *Nature*, 445(7123) :E1–2; discussion E2–3. 8, 45, 48, 70, 126, 133, 149
- McGinley, M. J. and Oertel, D. (2006). Rate thresholds determine the precision of temporal integration in principal cells of the ventral cochlear nucleus. *Hear Res*, 216-217 :52–63. 51
- Mercer, J. N., Chan, C. S., Tkatch, T., Held, J., and Surmeier, D. J. (2007). Nav1.6 sodium channels are critical to pacemaking and fast spiking in globus pallidus neurons. *J Neurosci*, 27(49) :13552–13566. 21, 67
- Meunier, C. and Segev, I. (2002). Playing the devil’s advocate : is the hodgkin-huxley model useful? *Trends Neurosci*, 25(11) :558–563. 8, 23
- Mickus, T., Jung, H., and Spruston, N. (1999). Properties of slow, cumulative sodium channel inactivation in rat hippocampal ca1 pyramidal neurons. *Biophysical Journal*, 76 :846–860. 22
- Monier, C., Chavane, F., Baudot, P., Graham, L. J., and Frégnac, Y. (2003). Orientation and direction selectivity of synaptic inputs in visual cortical neurons : a diversity of combinations produces spike tuning. *Neuron*, 37(4) :663–680. 38
- Monier, C., Fournier, J., and Frégnac, Y. (2008). In vitro and in vivo measures of evoked excitatory and inhibitory conductance dynamics in sensory cortices. *J Neurosci Methods*, 169(2) :323–365. 36, 38
- Monnier, A. M. and Jasper, H. H. (1932). Recherche de la relation entre les potentiels d action elementaires et la chronaxie de subordination. *Compt. Rend. SOC. Biol.*, 110 :547–549. 18
- Moore, J. W., Stockbridge, N., and Westerfield, M. (1983). On the site of impulse initiation in a neurone. *J Physiol*, 336 :301–311. 17, 27
- Moore, J. W. and Westerfield, M. (1983). Action potential propagation and threshold parameters in inhomogeneous regions of squid axons. *J Physiol*, 336 :285–300. 17
- Naundorf, B., Wolf, F., and Volgushev, M. (2006). Unique features of action potential initiation in cortical neurons. *Nature*, 440(7087) :1060–1063. 45, 46, 47, 55, 56, 69, 70, 71, 126, 133, 135, 149, 150
- Neher, E. and Sakmann, B. (1976). Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres. *Nature*, 260(5554) :799–802. 58
- Nernst, W. (1908). Zur theorie des elektrischen reizes. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 122 :275 – 314. 16



- Noble, D. (2007). From the hodgkin-huxley axon to the virtual heart. *J Physiol*, 580(Pt 1) :15–22. 8
- Noble, D. and Stein, R. B. (1966). The threshold conditions for initiation of action potentials by excitable cells. *J Physiol*, 187(1) :129–162. 16, 17, 18
- Noda, M., Shimizu, S., Tanabe, T., Takai, T., Kayano, T., Ikeda, T., Takahashi, H., Nakayama, H., Kanaoka, Y., and Minamino, N. (1984). Primary structure of electrophorus electricus sodium channel deduced from cdna sequence. *Nature*, 312(5990) :121–127. 58
- Novak, A. E., Jost, M. C., Lu, Y., Taylor, A. D., Zakon, H. H., and Ribera, A. B. (2006). Gene duplications and evolution of vertebrate voltage-gated sodium channels. *J Mol Evol*, 63(2) :208–221. 60
- Nowak, L. G., Sanchez-Vives, M. V., and McCormick, D. A. (1997). Influence of low and high frequency inputs on spike timing in visual cortical neurons. *Cereb Cortex*, 7(6) :487–501. 30, 31
- Ogawa, Y. and Rasband, M. N. (2008). The functional organization and assembly of the axon initial segment. *Curr Opin Neurobiol*, 18(3) :307–313. 60, 63
- Ogiwara, I., Miyamoto, H., Morita, N., Atapour, N., Mazaki, E., Inoue, I., Takeuchi, T., Itohara, S., Yanagawa, Y., Obata, K., Furuichi, T., Hensch, T. K., and Yamakawa, K. (2007). Na(v)1.1 localizes to axons of parvalbumin-positive inhibitory interneurons : a circuit basis for epileptic seizures in mice carrying an scn1a gene mutation. *J Neurosci*, 27(22) :5903–5914. 60
- Okun, M. and Lampl, I. (2008). Instantaneous correlation of excitation and inhibition during ongoing and sensory-evoked activities. *Nat Neurosci*, 11(5) :535–537. 38
- Pecher, C. (1937). Fluctuations independantes de l excitabilite de deux fibres d un meme nerf. *Compt. Rend. SOC. Biol.*, 124 :839–842. 18
- Perkel, D. H., SCHULMAN, J. H., BULLOCK, T. H., MOORE, G. P., and SEGUNDO, J. P. (1964). Pacemaker neurons : Effects of regularly spaced synaptic input. *Science*, 145 :61–63. 40
- Piwkowska, Z., Pospischil, M., Brette, R., Sliwa, J., Rudolph-Lilith, M., Bal, T., and Destexhe, A. (2008). Characterizing synaptic conductance fluctuations in cortical neurons and their influence on spike generation. *J Neurosci Methods*, 169(2) :302–322. 38
- Plummer, N. W. and Meisler, M. H. (1999). Evolution and diversity of mammalian sodium channel genes. *Genomics*, 57(2) :323–331. 60
- Poliak, S. and Peles, E. (2003). The local differentiation of myelinated axons at nodes of ranvier. *Nat Rev Neurosci*, 4(12) :968–980. 13, 63
- Pouille, F. and Scanziani, M. (2001). Enforcement of temporal fidelity in pyramidal cells by somatic feed-forward inhibition. *Science*, 293(5532) :1159–1163. 38
- Poussart, D. J. (1969). Nerve membrane current noise : direct measurements under voltage clamp. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 64(1) :95–99. 18

- Prescott, S. A., Koninck, Y. D., and Sejnowski, T. J. (2008). Biophysical basis for three distinct dynamical mechanisms of action potential initiation. *PLoS Comput Biol*, 4(10) :e1000198. 25, 26, 141
- Rasband, M. N. (2008). Na<sup>+</sup> channels get anchored...with a little help. *J Cell Biol*, 183(6) :975–977. 63
- Rasband, M. N. (2010). The axon initial segment and the maintenance of neuronal polarity. *Nat Rev Neurosci*, 11(8) :552–562. 63
- Reyes, A. D. and Fetz, E. E. (1993a). Effects of transient depolarizing potentials on the firing rate of cat neocortical neurons. *J Neurophysiol*, 69(5) :1673–1683. 51, 144
- Reyes, A. D. and Fetz, E. E. (1993b). Two modes of interspike interval shortening by brief transient depolarizations in cat neocortical neurons. *J Neurophysiol*, 69(5) :1661–1672. 51, 144, 145
- Richardson, M. J. E. and Gerstner, W. (2005). Synaptic shot noise and conductance fluctuations affect the membrane voltage with equal significance. *Neural Comput*, 17(4) :923–947. 56, 147
- Rieke, F., Warland, D., de Ruyter van Steveninck, R., and Bialek, W. (1999). *Spikes : Exploring the Neural Code*. The MIT Press. 30
- Rinzel, J. (1990). Discussion : Electrical excitability of cells, theory and experiment : Review of the hodgkin-huxley foundation and an update. *Bulletin of Mathematical Biology*, 52 :3–23. 4, 7, 8, 23
- Rosenblueth, A. (1935). The all-or-none principle and the nerve effector systems. *The Quarterly Review of Biology*, 10 :334. 1
- Rossant, C., Goodman, D. F. M., Platkiewicz, J., and Brette, R. (2010). Automatic fitting of spiking neuron models to electrophysiological recordings. *Front Neuroinformatics*, 4 :2. 41, 145
- Royeck, M., Horstmann, M.-T., Remy, S., Reitze, M., Yaari, Y., and Beck, H. (2008). Role of axonal nav1.6 sodium channels in action potential initiation of cal pyramidal neurons. *J Neurophysiol*, 100(4) :2361–2380. 21
- Rudolph, M. and Destexhe, A. (2006). On the use of analytical expressions for the voltage distribution to analyze intracellular recordings. *Neural Comput*, 18(12) :2917–2922. 147
- Rush, A. M., Dib-Hajj, S. D., and Waxman, S. G. (2005). Electrophysiological properties of two axonal sodium channels, nav1.2 and nav1.6, expressed in mouse spinal sensory neurones. *J Physiol*, 564(Pt 3) :803–815. 66
- Schulz, D. J. (2006). Plasticity and stability in neuronal output via changes in intrinsic excitability : it's what's inside that counts. *J Exp Biol*, 209(Pt 24) :4821–4827. 73
- Scott, L. L., Mathews, P. J., and Golding, N. L. (2010). Perisomatic voltage-gated sodium channels actively maintain linear synaptic integration in principal neurons of the medial superior olive. *J Neurosci*, 30(6) :2039–2050. 22, 67

- Segundo, J. P., Moore, G. P., Stensaas, L. J., and Bullock, T. H. (1963). Sensitivity of neurones in aplysia to temporal pattern of arriving impulses. *J Exp Biol*, 40 :643–667. 29
- Sekerli, M., Negro, C. A. D., Lee, R. H., and Butera, R. J. (2004). Estimating action potential thresholds from neuronal time-series : new metrics and evaluation of methodologies. *IEEE Trans Biomed Eng*, 51(9) :1665–1672. 44, 45
- Shadlen, M. N. and Newsome, W. T. (1994). Noise, neural codes and cortical organization. *Curr Opin Neurobiol*, 4(4) :569–579. 30
- Shadlen, M. N. and Newsome, W. T. (1995). Is there a signal in the noise? *Curr Opin Neurobiol*, 5(2) :248–250. 30
- Shu, Y., Duque, A., Yu, Y., Haider, B., and McCormick, D. A. (2007a). Properties of action-potential initiation in neocortical pyramidal cells : evidence from whole cell axon recordings. *J Neurophysiol*, 97(1) :746–760. 29
- Shu, Y., Yu, Y., Yang, J., and McCormick, D. A. (2007b). Selective control of cortical axonal spikes by a slowly inactivating k<sup>+</sup> current. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(27) :11453–11458. 39
- Sigworth, F. J. (1980). The variance of sodium current fluctuations at the node of ranvier. *J Physiol*, 307 :97–129. 58
- Sjodin, R. A. and Mullins, L. J. (1958). Oscillatory behavior of the squid axon membrane potential. *J Gen Physiol*, 42(1) :39–47. 17
- Smith, M. R., Smith, R. D., Plummer, N. W., Meisler, M. H., and Goldin, A. L. (1998). Functional analysis of the mouse scn8a sodium channel. *J Neurosci*, 18(16) :6093–6102. 66
- Softky, W. R. (1995). Simple codes versus efficient codes. *Curr Opin Neurobiol*, 5(2) :239–247. 30
- Spampanato, J., Escayg, A., Meisler, M. H., and Goldin, A. L. (2003). Generalized epilepsy with febrile seizures plus type 2 mutation w1204r alters voltage-dependent gating of na(v)1.1 sodium channels. *Neuroscience*, 116(1) :37–48. 60
- Spitzer, N. C., Kingston, P. A., Manning, T. J., and Conklin, M. W. (2002). Outside and in : development of neuronal excitability. *Curr Opin Neurobiol*, 12(3) :315–323. 73
- Strong, M. and Gutman, G. A. (1993). Missing link in ion channels. *Nature*, 362(6415) :26. 60
- Swanson, N. and Swanson, L. (1995). *Histology of the Nervous System of Man and Vertebrates (History of Neuroscience, No 6)*. Oxford University Press, USA. 26
- Tan, A. Y. Y. and Wehr, M. (2009). Balanced tone-evoked synaptic excitation and inhibition in mouse auditory cortex. *Neuroscience*, 163(4) :1302–1315. 38
- Tan, A. Y. Y., Zhang, L. I., Merzenich, M. M., and Schreiner, C. E. (2004). Tone-evoked excitatory and inhibitory synaptic conductances of primary auditory cortex neurons. *J Neurophysiol*, 92(1) :630–643. 38

- Taylor, C. P. (1993). Na<sup>+</sup> currents that fail to inactivate. *Trends Neurosci*, 16(11) :455–460. 22
- Touboul, J. and Brette, R. (2008). Dynamics and bifurcations of the adaptive exponential integrate-and-fire model. *Biol Cybern*, 99(4-5) :319–334. 26
- Traub, R. D. and Miles, R. (1991). *Neuronal Networks of the Hippocampus*. Cambridge University Press. 24, 28
- Trimmer, J. S. and Rhodes, K. J. (2004). Localization of voltage-gated ion channels in mammalian brain. *Annu Rev Physiol*, 66 :477–519. 58
- Tuckwell, H. C. (1988). *Introduction to Theoretical Neurobiology*. Cambridge University Press. 35
- Turrigiano, G. G. and Nelson, S. B. (2004). Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat Rev Neurosci*, 5(2) :97–107. 73
- Umrath, K. (1930). Untersuchungen ber plasma und plasmastrmung an characeen. *Protoplasma*, 9 :576 – 597. 2
- Verveen, A. A. and Derksen, H. E. (1968). Fluctuation phenomena in nerve membrane. *IEEE J. PROC.*, 56(6) :906–916. 16, 18
- Vilin, Y. Y. and Ruben, P. C. (2001). Slow inactivation in voltage-gated sodium channels : molecular substrates and contributions to channelopathies. *Cell Biochem Biophys*, 35(2) :171–190. 22
- Wang, X. J. and Buzsáki, G. (1996). Gamma oscillation by synaptic inhibition in a hippocampal interneuronal network model. *J Neurosci*, 16(20) :6402–6413. 25
- Wart, A. V., Trimmer, J. S., and Matthews, G. (2007). Polarized distribution of ion channels within microdomains of the axon initial segment. *J Comp Neurol*, 500(2) :339–352. 60
- Wehr, M. and Zador, A. M. (2003). Balanced inhibition underlies tuning and sharpens spike timing in auditory cortex. *Nature*, 426(6965) :442–446. 38, 52
- Wickens, J. R. and Wilson, C. J. (1998). Regulation of action-potential firing in spiny neurons of the rat neostriatum in vivo. *J Neurophysiol*, 79(5) :2358–2364. 45, 50
- Wilent, W. B. and Contreras, D. (2005a). Dynamics of excitation and inhibition underlying stimulus selectivity in rat somatosensory cortex. *Nat Neurosci*, 8(10) :1364–1370. 38
- Wilent, W. B. and Contreras, D. (2005b). Stimulus-dependent changes in spike threshold enhance feature selectivity in rat barrel cortex neurons. *J Neurosci*, 25(11) :2983–2991. 38, 44, 45, 49, 50, 51, 54, 134
- Yu, Y., Shu, Y., and McCormick, D. A. (2008). Cortical action potential backpropagation explains spike threshold variability and rapid-onset kinetics. *The Journal of Neuroscience*, 28 :7260–7272. 29, 46, 48, 70, 126
- Zagotta, W. N., Hoshi, T., and Aldrich, R. W. (1990). Restoration of inactivation in mutants of shaker potassium channels by a peptide derived from shb. *Science*, 250(4980) :568–571. 68

- Zakon, H. H., Lu, Y., Zwickl, D. J., and Hillis, D. M. (2006). Sodium channel genes and the evolution of diversity in communication signals of electric fishes : convergent molecular evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(10) :3675–3680. 60
- Zhang, M., Hung, F. S., Zhu, Y., Xie, Z., and Wang, J.-H. (2004). Calcium signal-dependent plasticity of neuronal excitability developed postnatally. *J Neurobiol*, 61(2) :277–287. 73
- Zhang, W. and Linden, D. J. (2003). The other side of the engram : experience-driven changes in neuronal intrinsic excitability. *Nat Rev Neurosci*, 4(11) :885–900. 73
- Zhou, W. and Goldin, A. L. (2004). Use-dependent potentiation of the nav1.6 sodium channel. *Biophys J*, 87(6) :3862–3872. 66